



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Medicina

Doctorado en Ciencias en Biomedicina

Detección de genes de resistencia a antibióticos comunes en microbiota oral de  
pacientes diabéticos con periodontitis

**Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de  
Doctorado en Ciencias en Biomedicina

Presenta:

\_\_\_\_\_  
M. en C. Víctor Rafael Vázquez Ramos

Dirigido por:

\_\_\_\_\_  
Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez

Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez

Presidente

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Rosa Martha Pérez Serrano

Secretario

\_\_\_\_\_  
Firma

Dr. Pablo García Solís

Vocal

\_\_\_\_\_  
Firma

Dr. José Luis Ayala Herrera

Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

Dr. Juan Carlos Solís Sainz

Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

Centro Universitario, Querétaro, Qro.  
Septiembre 2025  
México

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

## **Dedicatorias**

Principalmente este trabajo se lo dedico a mi amada esposa María Angélica Fonseca Rubio por su amor, paciencia y por siempre estar motivando los objetivos personales.

A mis dos hijos Matías Rafael Vázquez Fonseca y Moisés Vázquez Fonseca por pausar en repetidas ocasiones la elaboración de este documento, haciendo que se realizara con una mayor conciencia.

También dedico este trabajo a todos los profesores que me impartieron clase durante el doctorado, por su apoyo en mejorar semestre con semestre, no solo el presente proyecto si no por compartir sus experiencias personales y profesionales evidenciando su empatía y calidad humana.

## Agradecimientos

Agradezco enormemente la paciencia y gran enseñanza del Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez.

Agradecer la ayuda en revisión de documentos y metodología de mi compañera de generación Nelly Jovana Pasten Castrejón.

Agradezco la colaboración y disposición de todos los docentes de la clínica de admisión y diagnóstico de la Clínica de Odontología Benjamín Moreno Pérez de la Facultad de medicina de la UAQ.

Agradecer a los programas instaurados en la Clínica de Odontología UAQ que ayudan potencializar y agilizar los procesos en la recaudación de muestras biológicas; como lo son el “Repositorio Biológico de la Cavidad Oral” y a la “Clínica de Patología y Medicina Bucal UAQ”.

Agradecer al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) ahora Secretaria de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por beneficiarme con una beca económica durante todo el proceso a través del Programa de Becas de Posgrado y Apoyos a la Calidad.

## ÍNDICE

Resumen.....	7
Abstract.....	8
I.    Introducción .....	9
- Justificación.....	10
II.   Antecedentes .....	11
Resistencia a antibióticos .....	11
Periodontitis .....	17
Diabetes Mellitus Tipo 2 .....	19
PE y DMT2 como enfermedades bidireccionales.....	23
III.  Hipótesis .....	27
IV.  Objetivos.....	28
Objetivo General.....	28
Objetivos Específicos.....	28
V.    Materiales y Métodos.....	29
Diseño y Selección de Paciente .....	29
Recolección de la Muestra .....	31
Aislamiento de ADN bacteriano.....	32
Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR).....	33
Electroforesis.....	36
Análisis estadístico.....	37
Aspectos éticos y de bioseguridad.....	38
VI.   Resultados.....	40
VII.  Discusión.....	47
VIII. Conclusión.....	62
IX.  BIBLIOGRAFÍA .....	63

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Grupos y número de personas .....	30
<b>Cuadro 2.</b> Oligonucleótidos y condiciones utilizadas para detección de los ocho genes de resistencia .....	35
<b>Cuadro 3.</b> Características clínicas de las personas incluidas en los cuatro grupos.....	41
<b>Cuadro 4.</b> Gravedad de la enfermedad periodontal en los grupos de PE y DMT2+PE .....	42
<b>Cuadro 5.</b> Distribución del índice CPOD y sus elementos evaluados..	43
<b>Cuadro 6.</b> Prevalencia de genes de resistencia a antibióticos en la totalidad de individuos .....	45
<b>Cuadro 7.</b> Frecuencia de muestras positivas a diferentes GRA de forma simultánea .....	45
<b>Cuadro 8.</b> Distribución de ocho genes de resistencia a antibióticos ...	46

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Vías por las que se llevan a cabo las modificaciones estructurales de las bacterias resistentes a betalactámicos .....	16
<b>Figura 2.</b> Evaluación periodontal.....	30
<b>Figura 3.</b> Recolección de muestra de placa microbiana oral de las superficies dentales .....	31
<b>Figura 4.</b> Proceso de centrifugado .....	33
<b>Figura 5.</b> Preparación de reactivos para PCR .....	34
<b>Figura 6.</b> Proceso de electroforesis .....	36
<b>Figura 7.</b> Esquema de trabajo de laboratorio, donde se muestran las tres principales etapas en el procesamiento de cada una de las muestras .....	37
<b>Figura 8.</b> Gel de agarosa representativo, visualización con luz ultravioleta de amplicones del gen <i>tetQ</i> mediante transiluminador .....	44

## Resumen

La resistencia antibiótica (RA) es una amenaza a la salud pública. La propagación de genes de resistencia a antibióticos (GRA) se lleva a cabo principalmente por mecanismos conjugativos gracias a la formación de biopelículas patógenas. Esto es preocupante en poblaciones con una sobreutilización de antibióticos, como en el caso de personas con diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), ya que son susceptibles a infecciones. Si a esto le sumamos que la hiperglucemia se asocia con un mayor riesgo y severidad de periodontitis (PE), no solo representaría un problema a nivel local, sino que toma relevancia si la multiresistencia antibiótica es adquirida a través de los microorganismos en las bolsas periodontales, comprometiendo tratamientos en otros sitios del cuerpo humano. Objetivo: determinar la frecuencia con la que se presentan ocho GRA en la microbiota de la cavidad oral de pacientes con diagnóstico de DMT2, PE generalizada y sin ellas. Métodos: este estudio transversal incluyó 120 individuos distribuidos en cuatro grupos (grupo control, PE, DMT2 y DMT2+PE). Se recolectó una muestra de biopelícula bacteriana oral. Se extrajo el ADN bacteriano y se utilizaron oligonucleótidos específicos para identificar GRA de interés mediante la reacción en cadena de la polimerasa punto final (PCR). Resultados: en cuanto a la distribución de los ocho GRA evaluados, *tetQ* fue el más abundante en todos los grupos, *tetW* y *ermB* se presentaron aumentados en los grupos de DMT2 y DMT2+PE, el gen *cfxA* se observó principalmente en individuos con PE y finalmente *mecA* en personas sanas. Con respecto a la abundancia se encontró que los individuos con DMT2, con o sin PE tienden a presentar desde cuatro GRA o más, en comparación con el grupo control. Conclusión: la distribución de GRA en biopelículas periodontales mostró una prevalencia aumentada de GRA que codifican resistencia a tetraciclinas y macrólidos principalmente, en menor medida a los betalactámicos.

**Palabras claves:** resistencia antibiótica, genes de resistencia a antibióticos, periodontitis, diabetes mellitus tipo 2.



## Abstract

Antibiotic resistance (AR) is one of the main threats to global public health. The accentuated exposure of antimicrobial agents leads to the dissemination of antibiotic resistance genes (ARG), which spread by conjugative mechanisms due to the formation of pathogenic biofilms. This is even more worrisome in populations with an overuse of antibiotics, such as people with poorly controlled type 2 diabetes mellitus (T2DM), as they are susceptible to infection. If we add to this that hyperglycemia is associated with a higher risk and severity of periodontitis (PE), it would not only represent a problem at the local level but also become relevant if antibiotic multiresistance is acquired through microorganisms in periodontal pockets, compromising any treatments in other sites of the human body. Objective: to determine the frequency with which eight GRAs are present in the microbiota of the oral cavity of patients diagnosed with T2DM, generalized PE and without them. Methods: this cross-sectional study included 120 individuals distributed in four groups (control, PE, T2DM, and T2DM+PE). A sample of oral bacterial biofilm was collected. DNA was extracted, and specific oligonucleotides were used to identify the ARG of interest by polymerase chain reaction (PCR). Results: regarding the distribution of the eight GRAs evaluated, *tetQ* was the most abundant in all groups, *tetW* and *ermB* were present in increased amounts in the T2DM and T2DM+PE groups, the *cfxA* gene was mainly observed in individuals with PE, and finally, *mecA* was present in healthy subjects. With respect to abundance, was found that individuals with T2DM, with or without PE tend to present from four GRA or more, compared to the control group. Conclusions: the distribution of GRA in periodontal biofilms showed an increased prevalence of GRA encoding resistance to tetracyclines and macrolides mainly, and to a lesser extent to beta-lactams.

**Keywords:** antibiotic resistance, antibiotic resistance genes, periodontitis, type 2 diabetes mellitus.

## **I. Introducción**

La periodontitis (PE) es una condición inflamatoria impulsada por la respuesta inmunitaria del huésped, en estrecha relación con la presencia de microorganismos patógenos. Esta interacción conduce a la degradación progresiva de los tejidos de soporte periodontal. A nivel fisiopatológico, se han identificado rutas moleculares específicas que desencadenan la activación de enzimas proteolíticas endógenas, responsables de la destrucción de fibras marginales del ligamento periodontal. Este proceso también favorece el desplazamiento apical del epitelio de unión y la expansión de la biopelícula sobre la superficie radicular, extendiéndose hacia el hueso alveolar y provocando su reabsorción (Tonetti et al., 2018). La presentación clínica de la PE difiere según la edad del paciente, distribución y gravedad de la pérdida de inserción dentro del arco dental. Sin embargo, también existe evidencia suficiente para considerar que dentro del contexto de las enfermedades sistémicas que alteran gravemente la respuesta inmune del huésped, las manifestaciones periodontales patológicas suelen estar presentes en estados de gravedad importante. Una de las enfermedades sistémicas con mayor asociación a la PE es la Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2), particularmente en los casos donde los pacientes tienen un mal control de esta enfermedad sistémica (Polak & Shapira, 2018).

Un mal control de la DMT2 conduce a estados hiperglucémicos principalmente por un defecto relativo en la secreción de insulina estimulada por la glucosa que es insuficiente para compensar la resistencia a la insulina, alterando la respuesta inmunitaria del huésped, volviéndolo susceptible a diferentes infecciones recurrentes y graves (Alvarenga et al., 2021). Por lo que el uso de antimicrobianos se vuelve necesario y más frecuente en individuos que viven con DMT2 con mal control, promoviendo así una mayor resistencia a antibióticos (RA) e impactando negativamente en el control de infecciones (Akash et al., 2020).

La DMT2 y la RA son dos de los principales problemas de salud pública global, su prevalencia aumenta constantemente en todo el mundo y el alto riesgo de presentar

dificultad para tratar infecciones potencialmente mortales indica una coexistencia sinérgica de ambas condiciones (Boyanova & Mitov, 2013).

La adquisición de patrones RA e inclusive de virulencia, entre los microorganismos de distinta progenie se lleva a cabo por medio de un mecanismo de transferencia horizontal genética (THG) y puede volverse clínicamente relevante cuando ocurre entre distintos nichos del cuerpo humano; tal es el caso de los dos sitios con mayor cantidad de microorganismos como es la cavidad oral y el tracto gastrointestinal. La propagación genética entre estos dos hábitats es esperable dada la relación anatómica entre ambos; a esta está conexión se le suma la circulación sistémica donde la información genética de los microorganismos patógenos podría moverse directamente al sistema circulatorio humano y luego a otros lugares (Jeong et al., 2019). En este sentido, es crucial investigar los patrones de presentación de los principales genes de resistencia a antibióticos (GRA) en diferentes ubicaciones topográficas de la cavidad oral, y no solo por la posibilidad de infecciones resistentes de manera local, sino también por la posible asociación con infecciones resistentes, recurrentes y complejas en otros nichos del cuerpo humano en individuos sistémicamente comprometidos.

### **Justificación**

No existen reportes de la diversidad y abundancia de los GRA provenientes de la microbiota oral con presencia de PE en personas con DMT2. El que se determine esto es fundamental, pues implicaría que, de estar presentes en cantidad y diversidad considerable, serían capaces de “alojar” y posteriormente transmitir información genética a microorganismos que estén de paso por la cavidad oral y que tengan potencial patógeno en otras partes del cuerpo, complicando cualquier infección presente o futura.

Al identificar la diversidad y abundancia de GRA en esta población, se genera una aproximación epidemiológica que permite inferir patrones actuales de presión antibiótica, de forma que se puedan realizar propuestas para corregir y/o modificar

los esquemas antibióticos vigentes que se manejan en dicha población. De esta forma este proyecto impacta en la salud del individuo, pero también a nivel de salud pública.

## **II. Antecedentes**

### **Resistencia a antibióticos**

La RA es una amenaza mundial, proyectándose a ser una de las principales causas de muerte en el futuro próximo. Está aumentando no solo en las infecciones nosocomiales, sino también en las adquiridas en la comunidad (Núñez et al., 2020). Es un mecanismo natural que permite la supervivencia de los microorganismos y su aumento se debe a la transferencia de información genética entre patógenos (Burmeister, 2015).

Los GRA forman parte de la plasticidad fenotípica que posee un microbioma para contrarrestar su extinción y son el resultado de un proceso evolutivo cuya frecuencia se rige por factores mecanicistas influenciados por impulsores evolutivos. Entre estos impulsores evolutivos se encuentran el uso de antibióticos en humanos, animales y en la producción agrícola, así como también la transmisión bacteriana, la higiene, el saneamiento, la reutilización del agua y el contexto sociocultural entre las diferentes poblaciones. Por lo tanto, el amplio universo mecanicista de resistencia depende de eventos selectivos que son proporcionales al tiempo de exposición (Baquero et al., 2021). En este contexto, el uso antropogénico de antimicrobianos ha dado lugar históricamente a un aumento operativo de RA en diferentes áreas médicas (Podolsky, 2018), lo que también ha permitido identificar los principales GRA adquiridos por patógenos que constituyen un riesgo para la salud humana (Tacconelli et al., 2018).

En un escenario coevolutivo humano-bacteria-gen, la adquisición de GRA en microorganismos comensales y patógenos ocurre principalmente a través de la

THG, mediante elementos genéticos móviles como los plásmidos, bacteriófagos o transposones (Baron et al., 2018; Wheatley et al., 2021).

La THG se puede definir como el movimiento de información genética de un microorganismo a otro que no es su progenitor, y se han descrito tres mecanismos:

- Transformación: las bacterias toman ADN de su entorno
- Transducción: los bacteriófagos mueven genes de una célula a otra
- Conjugación: las bacterias transfieren genes directamente a otra célula

Probablemente el mecanismo más importante de disseminación de genes es la transmisión mediada por plásmidos. Estos son elementos extracromosómicos no esenciales para la bacteria que a menudo portan genes que confieren ciertas características a las bacterias como son resistencia, virulencia y persistencia en condiciones extremas. A menudo presentan una gran facilidad de conjugación entre especies, lo que les adjudica un importante papel en la evolución de las bacterias por su fácil transmisión tanto horizontal como vertical (Beceiro et al., 2012).

La THG favorece la formación de biopelículas y, a la inversa, las biopelículas con mayor densidad favorecen una mayor THG, esta interconexión establecida de biopelículas multiespecie puede producir combinaciones genéticas completamente nuevas (Madsen et al., 2012), que en condiciones de estrés bacteriano y la detección de quórum favorece la densidad celular y regula los mecanismos de virulencia y resistencia (Zhao et al., 2020). Adicionalmente, el sitio de infección específico (nicho) con biopelículas densas con baja actividad metabólica contribuye a reducir la susceptibilidad a los antibióticos (Crabbé et al., 2019). El 40% de la THG del microbioma humano se produce entre bacterias del mismo nicho (internicho), y el 60% restante aún se desconoce el mecanismo por el cual se produce, sin embargo, existen dos teorías principales: i) transferencia de ADN antes de la colonización de microorganismos al cuerpo humano y ii) de un sitio del cuerpo a otro

(entre-nichos) ya sea durante los estados de enfermedad o a lo largo de la vida del individuo (Jeong et al., 2019).

El establecimiento de biopelículas multiespecie en nichos específicos proporciona un entorno ideal para que ocurra la "conjugación" principalmente entre bacterias Gram negativas. Este mecanismo es considerado el más eficiente y, por lo tanto, el más utilizado por las bacterias para llevar a cabo la THG, esto debido a que las biopelículas favorecen el contacto físico entre células. Además, las biopelículas también favorecen la THG por medio de transposones, la cual generalmente ocurre entre bacterias Gram positivas. Sin embargo, los elementos genéticos móviles implicados en la THG pueden potencialmente propagarse desde una célula de la misma especie a otras especies, entre Gram negativo y Gram positivo, incluso de bacterias a levaduras (Madsen et al., 2012).

La THG puede propiciar un entorno clínico preocupante en el humano vinculado con la RA cuando ocurre entre nichos. Actualmente los dos sitios con la mayor cantidad de genoma bacteriano relacionado son el tracto gastrointestinal y la cavidad oral. Esta propagación genética entre nichos se ha explicado por la relación anatómica que existe entre estos sitios. Conjuntamente también existe una relación estrecha entre microbiomas de la cavidad oral y el tracto gastrointestinal con la sangre, lo que sugiere que existe información genética que podría moverse directamente de estos sitios al sistema circulatorio humano y luego a otros sitios (Jeong et al., 2019). En este sentido radica la importancia de informar los patrones de presentación de los GRA en nichos patológicos de la cavidad oral debido a su posible asociación con infecciones complejas en otros sitios del cuerpo humano.

Aún existe una brecha muy amplia en cuanto al conocimiento en la forma de presentación de los patrones de GRA, si bien la RA es un mecanismo primitivo incluso previo al uso de productos farmacéuticos antimicrobianos, se ha establecido que el empleo de antibióticos tanto en humanos como en animales domésticos ha sido el punto de quiebre para propiciar ambientes fuertemente contaminados con metabolitos antimicrobianos; esto ha ocasionado una presión selectiva sin

precedentes que se ve reflejado en una evolución y propagación de RA particular en cada región. La evolución suele ocurrir en pasos, el primer paso puede ser la presencia de un GRA cromosómico con secuencias de inserción o incluso a través de integrones, que proporcionan movilidad intracelular. La reubicación intracelular genética, por ejemplo, en un plásmido, permite que se mueva horizontalmente a través de cepas y especies bacterianas. En cualquier momento del proceso, la transferencia física de la bacteria portadora de GRA a través de las biopelículas, capacidad descrita como “conectividad ecológica”, probablemente esté aumentando en la mayoría del proceso. Todas estas oportunidades de transferencia pueden promoverse mediante el uso de antibióticos. Sin embargo, hay que destacar que la mayoría, si no todos, los procesos de reubicación intracelular genética ocurren también en ausencia de antibióticos, pero a un ritmo distinto (Larsson & Flach, 2022).

Entre los antimicrobianos de uso más frecuente en la práctica clínica se encuentran la amoxicilina sola o combinada con ácido clavulánico, la azitromicina, la clindamicina, la ciprofloxacina, el esquema gentamicina-metronidazol, así como la penicilina y la tetraciclina. Por lo que los genes examinados con mayor frecuencia con base a los antibióticos utilizados habitualmente son genes que codifican resistencia para  $\beta$ -lactámicos (*bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>OXA-1-like</sub>, *pbp 2b*, *bla*<sub>CTX-M</sub>, *mec A*), aminoglucósidos (*aac* (6')), macrólidos (*erm*) y metronidazol (*nim*). Y con menos frecuencia los genes de las carbapenemasas (*bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>NDM</sub> y *bla*<sub>OXA-48</sub>) (Almeida et al., 2020).

En un estudio realizado en Brasil con 22 individuos sistémicamente sanos con la presencia de gingivitis y PE se encontró que en el 78% de los pacientes presentaban por lo menos un GRA y el más común fue *erm* (58%), seguido de *bla*<sub>TEM</sub> (16.4%), *mec A* (2.7%), *pbp 2b* y *aac* (6') (1.8%). La proporción de GRA fue mayor en pacientes enfermos; sin embargo, no se observó una significancia estadística. Otros estudios han informado previamente una mayor prevalencia de GRA en sitios periodontales comprometidos. Estos hallazgos podrían explicarse por

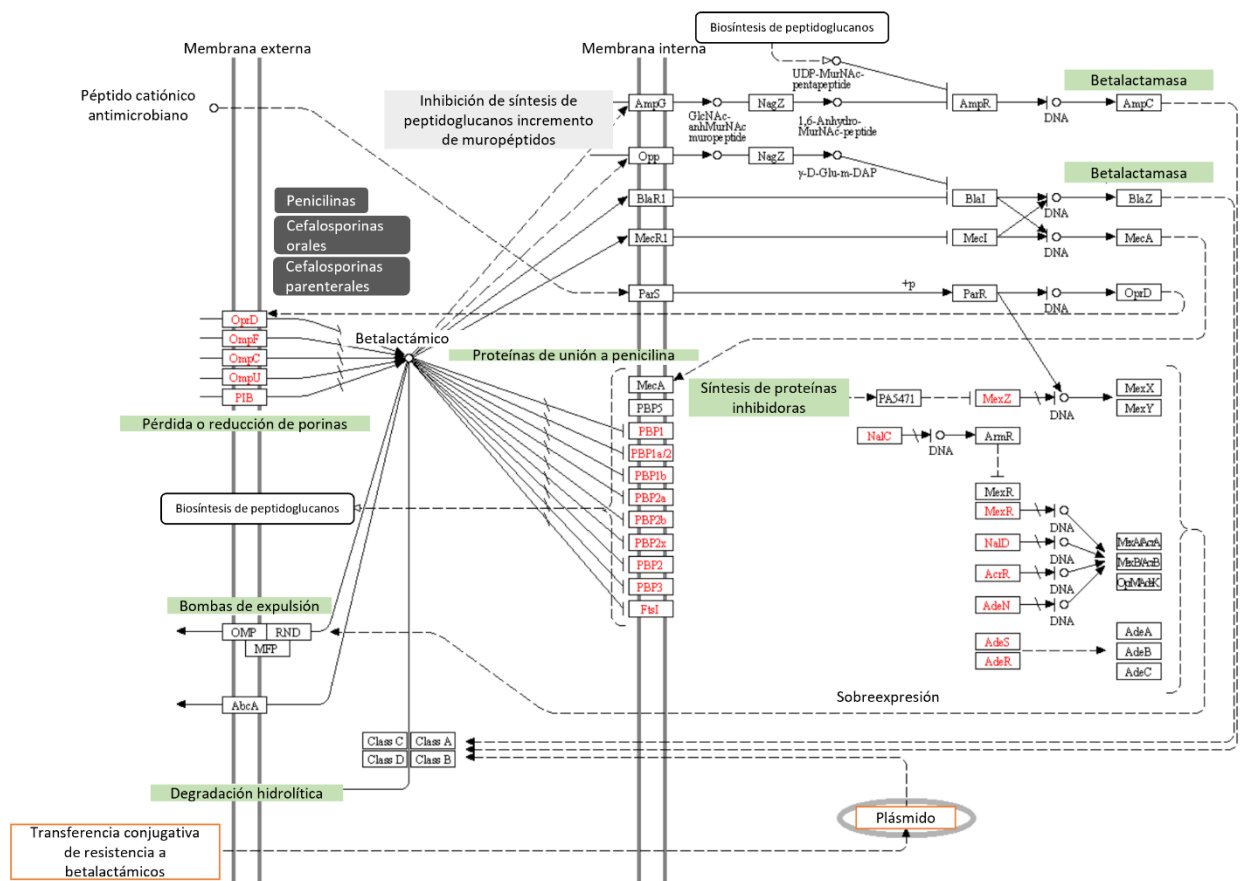
la abundancia de especies gramnegativas en las lesiones periodontales. Las bacterias Gram negativas generalmente tienen una alta tasa de transferencia horizontal genética, lo que conduce a la ubicuidad de los GRA (Almeida et al., 2020).

Los mecanismos de RA que poseen los microorganismos y que representan una relevancia clínica son: permeabilidad reducida, transporte activo de antibióticos, modificación y protección del objetivo, inactivación o modificación del fármaco y una derivación de destino. La resistencia a betalactámicos se lleva a cabo a través de los genes como *cfxA* y *blaTEM*, que participan en la producción de betalactamasa y, por lo tanto, contribuyen a la degradación hidrolítica del fármaco, así como también *mecA*, el cual favorece la producción de proteínas de unión a penicilinas y, por lo tanto, participa en la biosíntesis de peptidoglicanos. Resistencia a macrólidos (*ermA*, *ermB* y *ermC*) y tetraciclinas (*tetM*, *tetQ* y *tetW*), involucrados en las metilaciones y modificaciones ribosomales para impedir el principal mecanismo de acción de estos fármacos, que es la unión a los ribosomas bacterianos (Darby et al., 2023).

Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos constituyen el grupo más ampliamente utilizado en la práctica clínica, y ejercen su efecto al interferir con el entrecruzamiento estructural de los peptidoglicanos en la pared celular bacteriana. En las últimas décadas, se ha observado un incremento acelerado en el número de aislados clínicos resistentes a estos compuestos. En la **Figura 1** se representa a la transferencia conjugativa y la ruta molecular de resistencia bacteriana a antibióticos  $\beta$ -lactámicos, en la que se ilustran los principales mecanismos que permiten a las bacterias evadir su acción, incluyendo: i) la producción de  $\beta$ -lactamasas como AmpC (clase C) y BlaZ (clase A), ambas con serina en el sitio activo, que confieren resistencia mediante la hidrólisis de cefalosporinas o penicilinas, respectivamente, y presentan diferente sensibilidad frente a inhibidores como el ácido clavulánico; ii) la modificación o síntesis de proteínas blanco, como las proteínas de unión a penicilinas (PBPs), entre ellas MecA, PBP5 y PBP2a, esenciales para los procesos de transpeptidación y transglicosilación del peptidoglicano; iii) la alteración de porinas en la membrana



externa (como OprD), que limita la entrada del antibiótico; y iv) la activación de bombas de expulsión (efflux), como el sistema MexAB-OprM, que favorece la eliminación activa del fármaco. Además, se destacan múltiples reguladores transcripcionales (NalC, MexR, AcrR, entre otros) y componentes de señalización que modulan la expresión de genes de resistencia. Esta red molecular refleja la complejidad adaptativa de los patógenos clínicos frente a la presión antibiótica, y subraya la importancia de comprender estos procesos para el diseño de estrategias terapéuticas y de vigilancia epidemiológica (Kanehisa, 2019).



**Figura 1.** Vías por las que se llevan a cabo las modificaciones estructurales de las bacterias resistentes a betalactámicos. Recuadros en color verde claro muestran las principales estrategias por las que un microorganismo reduce su susceptibilidad a betalactámicos. *Fuente: bases de datos KEGG map01501 (Kanehisa, 2019).*

Los estados de disbiosis en la cavidad oral, como lo es la PE, y los procedimientos invasivos a menudo provocan daño tisular. Los epitelios lesionados permiten la transferencia pasiva de bacterias orales al torrente sanguíneo, por lo que pueden translocarse y llegar a otras partes del cuerpo (Almeida et al., 2020). Esto explicaría en gran medida la presencia de microbioma oral en distintos nichos del cuerpo humano.

### **Periodontitis**

La PE es una condición compleja de origen multifactorial que afecta la cavidad bucal, caracterizada por una inflamación crónica desencadenada por el acúmulo de biopelículas microbianas patógenas localizadas tanto supra como subgingivalmente. Esta alteración ecológica, o disbiosis, favorece una respuesta inmunitaria exacerbada que culmina en la degradación progresiva de los tejidos que sostienen al diente (Sanz et al., 2018). Sus características principales incluyen la pérdida de soporte del tejido periodontal, que se manifiesta a través de la pérdida de inserción clínica, pérdida ósea alveolar evaluada radiográficamente, presencia de bolsas periodontales y sangrado gingival (Papapanou et al., 2018).

Tiene una prevalencia del 45 al 50% en adultos en su forma más leve, y se eleva a más del 60% en personas mayores de 65 años. Se estima que la PE generalizada afecta al 11.2% de la población adulta global, y es una de las principales causas de pérdida dental, lo cual da como consecuencia una dificultad nutricional, alteraciones del habla, baja autoestima y peor calidad de vida en general (Buset et al., 2016; Sanz et al., 2018).

Los criterios para el diagnóstico de PE son mediante la evaluación de la calidad de inserción por medio de una sonda periodontal milimétrica en los dientes presentes, donde se considera como PE generalizada si más del 30% de los dientes sondeados presentan una profundidad de bolsa  $>3$  mm y  $>2$  mm en la pérdida de inserción (Armitage, 1999).

- Patogenia

La PE es el resultado de interacciones complejas entre la biopelícula y la respuesta inmune inflamatoria, y se estima que esta última es la causante de casi el 80% de daño al tejido periodontal (Shi et al., 2020).

La microbiota oral en seres humanos posee más de 700 especies de microorganismos que incluyen simbioses inofensivos, comensales y patógenos oportunistas (Shi et al., 2020). Existe una relación simbiótica entre los microorganismos residentes de la biopelícula, incluidas las interacciones entre las diferentes especies bacterianas y la respuesta inmune inflamatoria de los huéspedes a esa biopelícula. Sin embargo, existe un conocimiento limitado de los factores clave que mantienen este equilibrio estable y de la importancia y el papel de los comensales orales en la protección contra el desarrollo de disbiosis (Meyle & Chapple, 2015).

Estudios recientes que han examinado las interacciones huésped-bacteria revelaron que las bacterias comensales no solo protegen al huésped mediante la ocupación de un nicho, sino que también parecen crear un entorno que promueve el desarrollo de una estructura y función saludables del tejido periodontal. Estos datos indican que las comunidades polimicrobianas asociadas con el hospedador, como las que se encuentran en la cavidad oral, evolucionaron juntamente con el ser humano y se han convertido en una parte integral de la salud general. De hecho, se ha planteado considerar al microbioma como un órgano humano (Ley et al., 2008; Roberts & Darveau, 2015).

*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*, también conocidas como *bacterias del complejo rojo*, son persistentes en la PE crónica (Socransky et al., 1998). El desarrollo y la progresión de la PE pueden no depender de la presencia de una bacteria o complejo bacteriano específico, es decir, que la PE es el resultado de una interacción de bacterias multiespecie que influyen directamente en la respuesta inmunitaria proinflamatoria del huésped (Dommisch & Kerschull, 2021).

El desarrollo de un entorno microbiano disbiótico en el periodonto y la exacerbación proinflamatoria ocurren en un nicho propicio que es la bolsa periodontal, la cual tiene un avance progresivo dependiente de la pérdida de inserción epitelial. Este concepto describe un cambio de un entorno microbiano simbiótico al desarrollo de disbiosis dentro de la biopelícula que involucra a los llamados patógenos clave, como *P. gingivalis*. Los patógenos periodontales como *P. gingivalis* pueden invadir el tejido periodontal y con ello exacerbar la respuesta inmune con concentraciones crecientes de mediadores proinflamatorios que pueden potenciar la degradación periodontal. Además, varios patógenos periodontales son capaces de producir proteasas que afectan directamente a los tejidos y las respuestas inmunitarias del huésped (Dommisch & Kerschull, 2021).

### **Diabetes mellitus tipo 2**

La DMT2 forma parte de un conjunto de trastornos metabólicos definidos por concentraciones elevadas de glucosa en sangre. Esta variante se distingue por una producción insuficiente de insulina y por la incapacidad del organismo para contrarrestar eficazmente la resistencia periférica a dicha hormona (Thomas & Philipson, 2015). De todas las formas de diabetes, la DMT2 representa del 90 al 95% de los casos. Esta forma de diabetes engloba a las personas que tienen una deficiencia relativa y resistencia periférica a la insulina (American Diabetes Association, 2020).

La DMT2 es un problema de salud pública global. Se estima que hay 415 millones de adultos de 20 a 79 años con diabetes en todo el mundo, incluidos 193 millones que no han sido diagnosticados. De los que cuentan con un diagnóstico de DMT2, el 80% de los casos viven en países de ingresos medios y bajos. En América Latina, los dos países líderes en el número de casos son Brasil (14.3 millones) seguido de México (11.5 millones) (Bello-Chavolla et al., 2017; Sanz et al., 2018).

Se estima que otros 318 millones de adultos en todo el mundo tienen intolerancia a la glucosa, lo que los pone en alto riesgo de desarrollar la enfermedad. Si no se

detiene el aumento en el número de casos de DMT2, para el 2040 habrá más de 642 millones de personas que vivirán con la enfermedad. Lo cual representaría que la diabetes sería la causa de más de cinco millones de muertes anuales, con costos sanitarios que superan los 1800 millones de dólares anuales, esto según las últimas cifras globales reportadas en 2015 (Sanz et al., 2018).

La hiperglucemia crónica produce alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas, lo cual se reflejaría en una disfunción y fallo a largo plazo de varios órganos y tejidos. Los daños ocurren principalmente a nivel microvascular lo que repercute especialmente en los ojos, el tejido nervioso y en órganos vitales como los riñones y el corazón (American Diabetes Association, 2020). El crecimiento de la población, el envejecimiento y los cambios importantes en el estilo de vida han contribuido a una mayor prevalencia de la DMT2 y sus comorbilidades; esto hace que la atención médica para la DMT2 represente un costo elevado para el sistema nacional de salud, así como gastos importantes para los pacientes y sus familias (Bello-Chavolla et al., 2017).

La etiología de la DMT2 es multifactorial, y se sabe que los factores ambientales son predominantes para el desarrollo de este tipo de diabetes comparado con la predisposición genética. El aumento de peso en la población general, resultado de dietas altas en grasas y calorías, así como un estilo de vida sedentario, son predisponentes a un fenotipo clínico llamado síndrome metabólico que incluye resistencia a la insulina, obesidad en la parte superior del cuerpo, hipertensión, hipertrigliceridemia y concentraciones bajas de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad, promoviendo que las personas tengan alto riesgo de intolerancia a la glucosa y diabetes (Polonsky, 2012).

La DMT2 ocurre con frecuencia en embarazadas con diabetes gestacional previa, personas con hipertensión y dislipidemia, y en ciertos grupos raciales (afroamericanos, nativos americanos, latinos y asiático americanos). La predisposición genética en la DMT2 aún no es muy clara; no se ha identificado un locus de susceptibilidad genética predominante en esta enfermedad. Se han

identificado más de 40 variantes genéticas que aumentan el riesgo de DMT2, pero en conjunto estas variantes solo representan el 10% de la heredabilidad del trastorno. Las personas que poseen estas variantes genéticas tienen un riesgo del 10 al 15% más que las personas que no las tienen (Polonsky, 2012).

La edad es uno de los factores determinantes en la incidencia de DMT2, que varía de 3.2% en personas de 20 a 29 años, 32.75% en la población de 60 a 69 años y desciende al 26.21% en personas mayores de 70 años. La DMT2 de aparición temprana (personas menores de 40 años) aumenta la existencia de complicaciones crónicas relacionadas con la enfermedad, así como la carga social y económica en edades productivas de las personas (Bello-Chavolla et al., 2017).

- Fisiopatología de la DMT2

Cuando las células  $\beta$  presentan disfunción, la liberación de insulina se ve comprometida, lo que dificulta el mantenimiento de la homeostasis glucémica. Paralelamente, la resistencia a la insulina favorece una mayor producción hepática de glucosa y reduce su absorción en tejidos como el músculo esquelético, el hígado y el tejido adiposo. Aunque ambos mecanismos suelen coexistir desde las etapas iniciales de la enfermedad y contribuyen a su instauración, la afectación de las células  $\beta$  tiende a ser más determinante. La presencia simultánea de resistencia insulínica y deterioro de la función  $\beta$ -pancreática intensifica la hiperglucemia y acelera la progresión de la DMT2 (Galicía-García et al., 2020).

Fisiológicamente, las células  $\beta$  pancreáticas son responsables de la producción de insulina, que se sintetiza como preproinsulina. En el proceso de maduración, la preproinsulina sufre una modificación conformacional llevada a cabo con la ayuda de varias proteínas en el retículo endoplásmico (RE) para producir proinsulina. Posteriormente, la proinsulina se transloca desde el RE al aparato de Golgi (AG), ingresa en vesículas secretoras inmaduras y se escinde en péptido C e insulina (Bunney et al., 2017; Fu et al., 2012).

Una vez que la insulina ha alcanzado su forma funcional, se conserva en gránulos intracelulares hasta que se activa su exocitosis. Este proceso se inicia predominantemente en respuesta a concentraciones elevadas de glucosa en sangre. No obstante, también pueden participar otros estímulos en la inducción de su liberación, como ciertos aminoácidos, ácidos grasos y señales hormonales (Boland et al., 2017). Cuando aumentan las concentraciones de glucosa circulante, las células  $\beta$  absorben glucosa principalmente a través del transportador de glucosa 2 (GLUT2). Tras el ingreso de glucosa a la célula, se activa su metabolismo, lo que incrementa la proporción de ATP respecto a ADP en el citoplasma. Este cambio energético provoca el cierre de los canales de potasio sensibles a ATP en la membrana plasmática, generando su despolarización. Como consecuencia, se abren los canales de calcio dependientes de voltaje, permitiendo el ingreso de  $\text{Ca}^{2+}$  al interior celular. El aumento de calcio intracelular facilita la aproximación y fusión de los gránulos que almacenan insulina con la membrana plasmática, desencadenando así su liberación mediante exocitosis (Fu et al., 2012; Boland et al., 2017; Galicia-García et al., 2020).

Para que ocurra una disfunción de las células  $\beta$ , la evidencia reciente sugiere que en la DMT2 podría deberse a una red compleja de interacciones entre el medio ambiente y diferentes vías moleculares implicadas en la biología celular (Halban et al., 2014). Cuando las células  $\beta$  están sujetas a eventos tóxicos que incluyen inflamación, estrés en el RE, estrés metabólico/oxidativo, estrés amiloide, todo esto tiene el potencial de producir una pérdida de integridad en los islotes de Langerhans (Christensen & Gannon, 2019).

La presencia excesiva de ácidos grasos libres junto con concentraciones elevadas de glucosa en sangre contribuye al deterioro funcional de las células  $\beta$  pancreáticas, principalmente mediante la inducción de estrés en el retículo endoplásmico (RE) y la activación de vías apoptóticas asociadas a la respuesta de proteínas mal plegadas (UPR). En el contexto de la obesidad, fenómenos como la lipotoxicidad, glucotoxicidad y glucolipotoxicidad generan un entorno metabólico y oxidativo

adverso que compromete la viabilidad celular. El estrés provocado por concentraciones altas de ácidos grasos saturados puede activar la UPR a través de distintos mecanismos, entre ellos la inhibición del retículo sarco/endoplásmico  $\text{Ca}^{2+}$  ATPasa (SERCA) responsable de la movilización de  $\text{Ca}^{2+}$  al RE; activación de los receptores inositol 1,4,5 trifosfato (IP3) o deterioro directo de la homeostasis del retículo endoplásmico. Por otro lado, la hiperglucemia sostenida incrementa la síntesis de proinsulina y de polipéptidos amiloides de los islotes (IAAP), favoreciendo su acumulación en formas mal plegadas y elevando la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) derivadas del estrés oxidativo proteico. Estos procesos alteran la dinámica fisiológica del calcio en el RE, promueven señales proapoptóticas, inducen la degradación del ARNm de proinsulina y estimulan la liberación de interleucina-1 $\beta$ , lo que atrae macrófagos y exacerba la inflamación local en los islotes pancreáticos. En conjunto, las alteraciones en la síntesis de precursores de insulina, en su procesamiento y en los mecanismos de secreción, constituyen factores clave en la disfunción secretora de las células  $\beta$ , considerada el eje central de la insuficiencia pancreática en la DMT2 (Galicia-García et al., 2020; Halban et al., 2014; Christensen and Gannon, 2019).

### **PE y DMT2 como enfermedades bidireccionales**

Las bases de las pruebas de asociaciones independientes entre la PE y la DMT2 están establecidas desde hace mucho tiempo, y se ha informado de una influencia de doble direccionalidad. En la dirección diabetes-periodontitis, la hiperglucemia se asocia con un mayor riesgo y gravedad de PE y peores resultados en la terapia periodontal (Sanz et al., 2018).

La evaluación médico-odontológica es crucial para la detección temprana de DMT2; de hecho, existen datos clínicos como la supuración en la PE y los indicadores de la gravedad de la enfermedad periodontal, que, junto con los métodos de evaluación de riesgos de presentar diabetes, mejoran significativamente las tasas de detección de DMT2. En un estudio realizado en EE. UU., la detección de diabetes en el entorno



dental fue eficaz para identificar tanto la prediabetes como la diabetes, y la detección temprana llevó a la inducción de medidas rentables en el cambio de estilo de vida que dieron como resultado que una proporción significativa de pacientes pasaran de la prediabetes a la normoglucemia durante el período de prueba. En Reino Unido, el Instituto Nacional de Excelencia Clínica ha sugerido que otros profesionales de la salud, además de los médicos, incluidos los dentistas, deberían realizar pruebas de detección de diabetes como un protocolo en la atención primaria de la consulta ambulatoria (Albert et al., 2012; Sanz et al., 2018).

En la dirección periodontitis-diabetes, la PE se asocia con concentraciones séricas significativamente elevadas de HbA1C en personas sin diabetes y en aquellos con diabetes, y aún no queda claro si hay una relación directa entre la gravedad de la PE y las complicaciones cardio-renales en la diabetes (Genco, 2013). La PE también se asocia con dislipidemia y elevaciones de los marcadores de estrés oxidativo en el suero de personas con DMT2 (Em et al., 2011). La evidencia emergente también indica que las personas con PE tienen un mayor riesgo de desarrollar DMT2 (Demmer, 2008; Simpson et al., 2015).

En cuanto al impacto del tratamiento periodontal sobre las concentraciones séricas de HbA1C, se demostró una reducción media de la HbA1C del 0.36% (intervalo de confianza [IC] del 95%: 0.19; 0.54) a los 3 meses, un resultado consistente con metaanálisis previos (Sanz et al., 2018). Estos datos parecieran no tener una relevancia clínica significativa, sin embargo, si lo comparamos con estudios realizados a 12 meses con un control periodontal adecuado (tratamiento basado en desbridamiento de tejido blando, raspado y alisado de superficies dentales quirúrgico y no quirúrgico, así como el uso de antibióticos locales o sistémicos), la evidencia es aún más significativa en el adecuado control de la DMT2, comparado con los estudios a 3 o inclusive a 6 meses (Aiuto et al., 2021).

- Respuesta del huésped de un individuo con DMT2 a la inflamación local por PE

Los microorganismos colonizadores en las superficies mucosas orales, junto con peligrosas moléculas de señalización endógena como el ATP o el ADN extracelulares, activan el inflamasoma, lo que resulta en la posterior secreción de las citocinas proinflamatorias IL-1 $\beta$  e IL-18. Esta activación del inflamasoma está mediada por la actividad de la caspasa-1 (Meyle & Chapple, 2015). Que junto con especies reactivas de oxígeno ocurre un estrés oxidativo en la PE, este proceso puede resultar en retroalimentación positiva en la respuesta del huésped así como en la cronicidad de la inflamación (Sá et al., 2020; Yilmaz and Lim Lee, 2015).

En personas con diabetes las reacciones inflamatorias locales dentro de los tejidos periodontales están moduladas por la desregulación metabólica asociada (es decir, las respuestas tisulares a los estímulos inflamatorios aumentan en la diabetes mal controlada, esto debido a la unión de la glucosa, los productos finales de la glicación avanzada y las lipoproteínas de baja densidad oxidadas a sus componentes complementarios en la superficie de los receptores de neutrófilos). Estas respuestas celulares hiperinflamatorias conducen a una rápida destrucción tisular y pérdida de inserción (Sonnenschein & Meyle, 2015). Esta explicación específica proporciona un ejemplo clásico de cómo los cambios en la fisiología humana y el medio ambiente pueden alterar el delicado equilibrio entre una respuesta del huésped al desafío microbiano oral.

La hiperglucemia crónica (>200 mg/dl) se asocia con una reducción de la actividad neutrofílica, así como con una fagocitosis leucocitaria debilitada. Debido a esta inmunosupresión, los pacientes con diabetes mal controlada no solo son susceptibles a PE sino también a otras infecciones recurrentes de origen bacteriano o viral en distintas partes del cuerpo, incluso infecciones poco frecuentes, pero potencialmente mortales. Esto implica que las personas con DMT2 son consideradas un grupo de riesgo para infecciones locales y son más susceptibles a desarrollar condiciones sistémicas severas, por lo que su consumo de antimicrobianos es más notable (Boyanova & Mitov, 2013).

La finalidad de la presente investigación es proporcionar información relevante sobre la presencia de GRA de la microbiota oral en personas con diagnóstico de PE sin enfermedades sistémicas, personas con DMT2 sin enfermedad periodontal, personas con el diagnóstico de ambas enfermedades y comparar los resultados con muestras de un grupo de personas control. Esto representaría un punto de inflexión en un escenario potencial sobre la dinámica de la THG en personas susceptibles a la RA.

### **III. Hipótesis**

La presencia de GRA en la microbiota de la cavidad oral de pacientes con diagnóstico de DMT2 y PE generalizada es más diversa y abundante que en sujetos sanos.

#### IV. Objetivos

##### Objetivo general

Determinar la frecuencia con la que se presentan ocho GRA en la microbiota de la cavidad oral de pacientes con diagnóstico de DMT2, PE generalizada y sin ellas.

##### Objetivos específicos

- Identificar la presencia de *bla-TEM*, *ermC*, *cfxA*, *tetW*, *tetQ*, *ermA*, *ermB* y *mecA* en muestras de cavidad oral de pacientes con DMT2 y PE generalizada.
- Identificar la presencia de *bla-TEM*, *ermC*, *cfxA*, *tetW*, *tetQ*, *ermA*, *ermB* y *mecA* en muestras de cavidad oral de pacientes con DMT2 sin PE generalizada.
- Identificar la presencia de *bla-TEM*, *ermC*, *cfxA*, *tetW*, *tetQ*, *ermA*, *ermB* y *mecA* en muestras de cavidad oral de pacientes con PE generalizada sin DMT2.
- Identificar la presencia de *bla-TEM*, *ermC*, *cfxA*, *tetW*, *tetQ*, *ermA*, *ermB* y *mecA* en muestras de cavidad oral de pacientes sin DMT2 ni PE generalizada.
- Analizar y comparar la frecuencia en la que se encontraron los ocho GRA en cada uno de los grupos.

## V. Materiales y Métodos

### Diseño y selección de pacientes

Este estudio transversal incluyó a 120 individuos que acudieron a consulta de primera vez o subsecuente a la Clínica de Odontología “Benjamín Moreno Pérez” de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro (COFM-UAQ) y al Centro de Atención a la Diabetes del Instituto Mexicano del Seguro Social (CADIMSS).

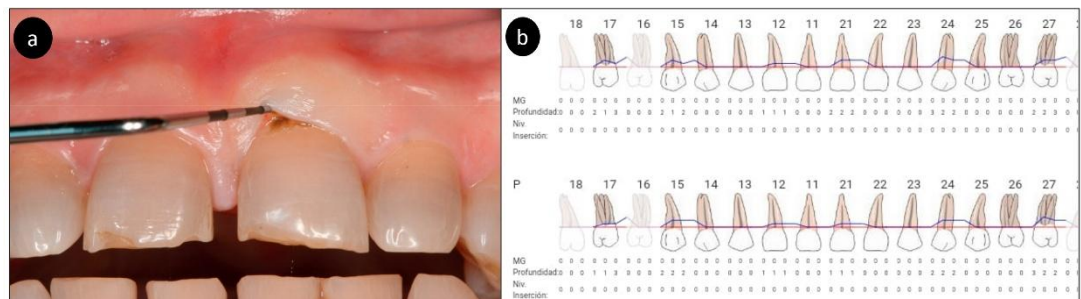
Los participantes se dividieron en cuatro grupos, cada uno compuesto por 30 individuos: un grupo con diagnóstico de DMT2 más PE, un grupo únicamente con diagnóstico de DMT2, un grupo que presentaba solo PE y un grupo control con personas aparentemente sanas sin DMT2 ni PE (Cuadro 1). Para los grupos que incluyeron a personas con DMT2, estos debían tener al menos cinco años con la enfermedad, así como la concentración de glucosa plasmática entre 70 y 300 mg/dl, medidos mediante una prueba rápida de glucosa plasmática (PRGP) al momento de la toma de muestra. Para los grupos con PE, el diagnóstico se realizó de acuerdo con los criterios de PE generalizada (más del 30% de los sitios evaluados con profundidad de bolsa >3mm y una pérdida de inserción epitelial >2mm) (Armitage, 1999), dichos criterios correspondientes a una forma clínica de gravedad de la enfermedad periodontal equivalente a estadios II, III y IV según la nueva clasificación del 2017 de la enfermedad periodontal y peri-implantar propuesta por la Academia Americana de Periodontología (AAP) en conjunto con la Federación Europea de Periodontología (EFP) (Kornman & Papapanou, 2020). La evaluación se llevó a cabo con una sonda periodontal Goldman Fox (Hu-Friedy, Alemania) y todos los datos fueron documentados y digitalizados (**Figura 2**).

Las personas sin diagnóstico previo de DMT2 debían presentar una concentración de glucosa plasmática en ayunas (PRGP) comprendida entre 70 y 140 mg/dl al momento de la recolección de la muestra. Los criterios de selección generales de

las personas al momento de la toma de muestra de la placa microbiana oral fueron los siguientes: ambos sexos, entre 35 y 65 años, y con al menos 20 dientes.

**Cuadro 1.** Grupos y número de personas.

Grupos				
Control	PE	DMT2	DMT2+PE	TOTAL
n=30	n=30	n=30	n=30	N=120
PE: Periodontitis; DMT2: Diabetes mellitus tipos 2; DMT2+PE: Diabetes mellitus tipo 2 más periodontitis.				



**Figura 2.** Evaluación periodontal. a) fotografía clínica donde se muestra la presencia de bolsa periodontal >3 mm en el incisivo central superior izquierdo en su cara vestibular. b) captura digital gráfica y numérica (mm de profundidad en inserción gingival) de la evaluación periodontal de cada diente presente.

Se excluyeron los individuos que: 1) recibieron tratamiento periodontal o profilaxis en los últimos 6 meses; 2) se cepillaron los dientes o usaron enjuague bucal en las últimas 2 horas; 3) son fumadores; o 4) recibieron algún tipo de antibióticos en los últimos 3 meses.

Para el análisis complementario sobre la experiencia de caries dental, se evaluó la superficie total de los dientes erupcionados mediante el índice CPOD (dientes cariados, perdidos y obturados). Se excluyeron los terceros molares de los cuatro cuadrantes.

### Recolección de la muestra

Con una cureta tipo Gracey 11/12 (Hu-Friedy, Alemania) estéril se tomó placa microbiana oral supragingival y de surcos y fisuras oclusales de cuatro dientes, los cuales se seleccionaron aleatoriamente de un diente anterior y uno posterior de cada arcada para asegurar la representatividad de las muestras. Con el extremo contrario de la cureta Gracey 11/12 se tomó placa microbiana oral subgingival, protocolo que solo pudo llevarse a cabo en pacientes con PE (**Figura 3**). La placa microbiana oral de las superficies mucosas orales se tomó con espátula 7-A estéril frotando mucosa yugal y lengua principalmente. La placa microbiana oral recolectada en cada ocasión se almacenó en un microtubo con buffer de fosfato salino (PBS), obteniendo de esta manera tres: tubo “A” (placa microbiana oral supragingival), tubo “B” (placa microbiana oral subgingival) y tubo “C” (placa microbiana oral de mucosas orales). Los tubos, previamente rotulados con el número de paciente, se almacenaron a  $-40^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 3.** Recolección de muestra de placa microbiana oral de las superficies dentales. a) paciente sin diagnóstico de PE, recolección de placa microbiana oral supragingival; b) paciente con PE, recolección de placa microbiana oral subgingival.



### **Aislamiento del ADN bacteriano**

En un solo tubo Eppendorf se incorporaron muestras de placa microbiana oral supragingival, subgingival y de las superficies mucosas orales de cada uno de los participantes. Para cada tubo se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

1. Se centrifugó a 13,000 rpm (CRM GLOBE, Centrifugante III) por 10 minutos como se muestra en la **Figura 4**.
2. Se descartó el sobrenadante y se lavó la muestra con 1000 µL de PBS repitiendo este paso 3 veces.
3. Se le agregaron 30 µL de solución de lisis y 30 µL de proteinasa K.
4. Se incubó durante 5 minutos a 80° C, seguido de esto se incubaron a 37° C durante los próximos 30 minutos.
5. Se agregaron 1.5 µL de RNAasa, 100 µL de solución de precipitación de proteínas para ser llevadas al vórtex por 20 segundos.
6. Se centrifugó durante 10 minutos a 13,000 rpm, y se colectó el sobrenadante en un tubo nuevo.
7. Se agregaron 500 µL de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico y se mezcló invirtiendo el tubo.
8. Se centrifugó durante 10 minutos a 13,000 rpm.
9. Se llevó la capa acuosa a un nuevo tubo, para agregarle 400 µL de isopropanol al 100% y mezclar invirtiendo el tubo.
10. Se colocó en hielo durante 10 minutos, se centrifugó a 13,000 rpm durante 10 minutos y se descartó el isopropanol.
11. Se lavó el pellet con 500 µl de etanol al 70% y se centrifugó a 13,000 rpm por 10 minutos para posteriormente descartar el etanol.
12. Se dejó secando el pellet por 4 horas a temperatura ambiente.
13. Se agregaron 100 µl de agua bidestilada estéril para hidratar el ADN, el cual fue almacenado a -20°C.

Todo el proceso se puede ver en la “etapa 1” graficada en el esquema de trabajo de laboratorio de la **Figura 7**.



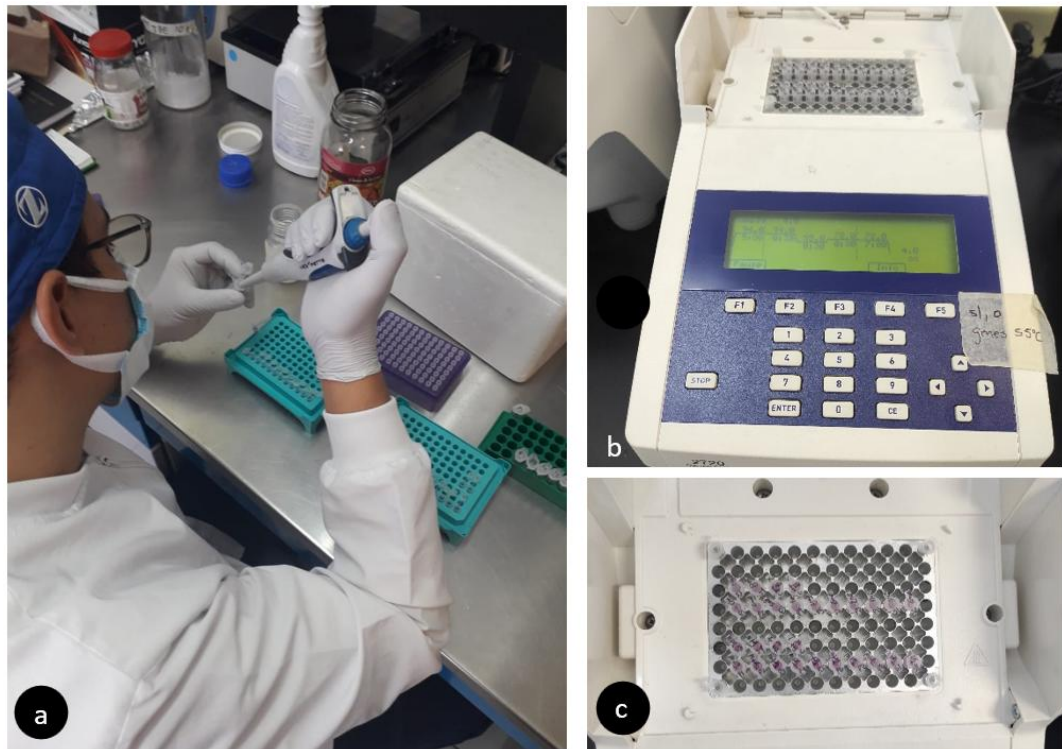
**Figura 4.** Proceso de centrifugado. Colocación de las muestras de placa microbiana oral para lavados y extracción de ADN con el método fenol-cloroformo.

### **Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR)**

Para los ensayos de PCR para ocho genes de resistencia se usaron oligonucleótidos específicos descritos detalladamente en el **Cuadro 2**. El procedimiento para cada una de las muestras se llevó a cabo con reacciones de 25  $\mu$ l en microtubos de 0.2 ml compatibles con el termociclador utilizado **Figura 5** (Applied Biosystems by Thermo Fisher Scientific, 2720 Thermal Cycler), de la siguiente manera:

1. Se colocaron 7.5  $\mu$ l de agua bidestilada estéril.

2. 1  $\mu$ l de oligonucleótido forward.
3. 1  $\mu$ l de oligonucleótido reverse.
4. 12.5  $\mu$ l de Taq.
5. 3  $\mu$ l del ADN previamente aislado.
6. En cada experimento se utilizó agua bidestilada estéril como control negativo.
7. Se utilizaron como control positivo fragmentos de doble cadena de ADN sintético (gBlocks) que fueron utilizados como templados de la PCR. Tanto los oligonucleótidos como los gBlocks fueron sintetizados por la empresa “Integrated DNA Technologies”. El proceso de PCR se describe en la “etapa 2” del esquema de trabajo de laboratorio de la **Figura 7**.



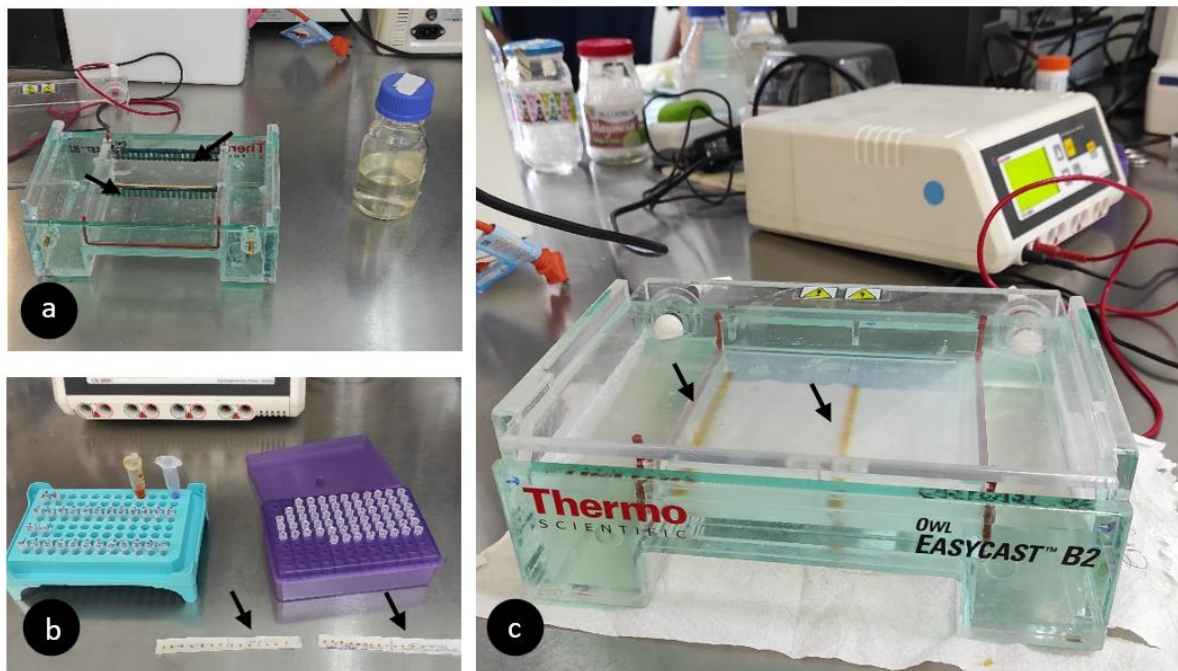
**Figura 5.** Preparación de reactivos para PCR. a) colocación de oligonucleótidos en microtubos; b y c) orden de la colocación de los microtubos en el termociclador.

**Cuadro 2.** Características de los oligonucleótidos utilizados para la detección de los ocho GRA

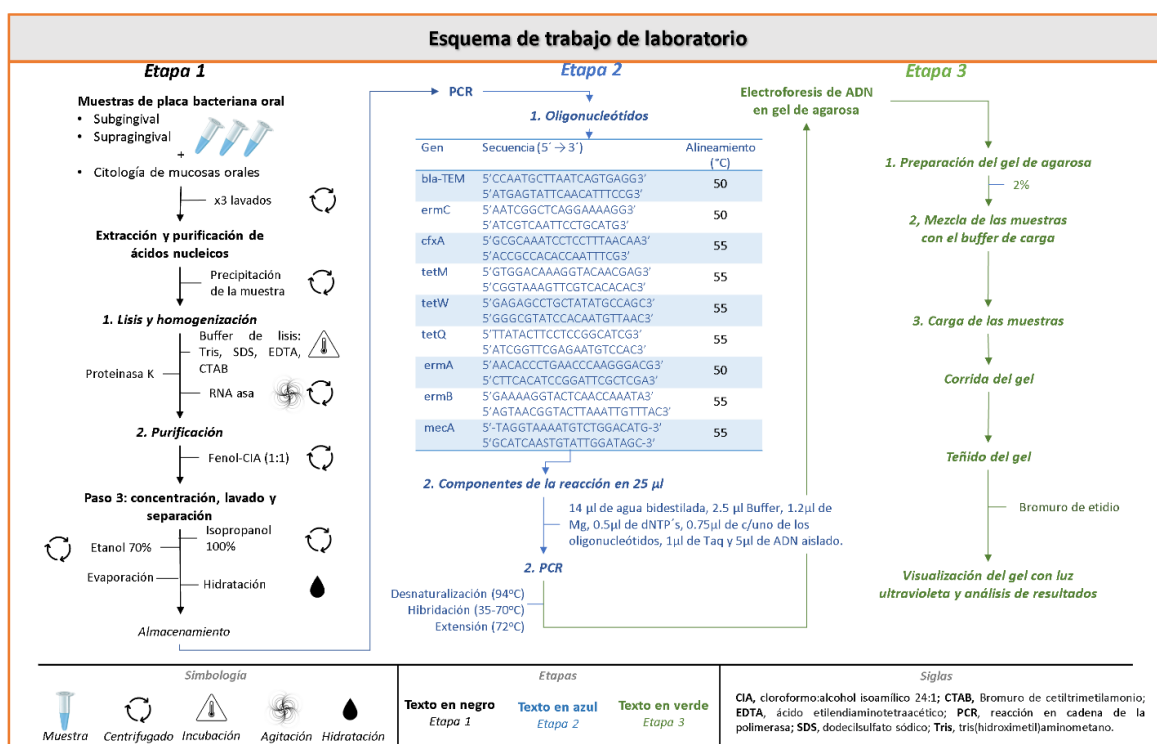
GRA	Secuencia de los Oligonucleótidos	Temperatura de Alineamiento (°C)	Amplicón (pb)
<b>bla-TEM</b>	5'CCAATGCTTAATCAGTGAGG3'	50	858
	5'ATGAGTATTCAACATTTCCG3'		
<b>ermC</b>	5'AATCGGCTCAGGAAAAGG3'	50	562
	5'ATCGTCAATTCCTGCATG3'		
<b>cfxA</b>	5'GCGCAAATCCTCCTTTAACAA3'	55	802
	5'ACCGCCACACCAATTTTCG3'		
<b>tetW</b>	5'GAGAGCCTGCTATATGCCAGC3'	55	168
	5'GGGCGTATCCACAATGTTAAC3'		
<b>tetQ</b>	5'TTATACTTCCTCCGGCATCG3'	55	904
	5'ATCGGTTTCGAGAATGTCCAC3'		
<b>ermA</b>	5'AACACCCTGAACCCAAGGGACG3'	50	420
	5'CTTCACATCCGGATTCGCTCGA3'		
<b>ermB</b>	5'GAAAAGGTACTCAACCAAATA3'	55	639
	5'AGTAACGGTACTTAAATTGTTTAC3'		
<b>mecA</b>	5'-TAG-GTA-AAA-TGT-CTG-GAC-ATG-3'	55	533
	5'-GCA-TCA-AST-GTA-TTG-GAT-AGC-3'		

## Electroforesis

Los productos de PCR se sometieron a electroforesis en geles de agarosa al 2% teñidos con bromuro de etidio y visualizados en transiluminador UV. Se identificó y se documentó la presencia o ausencia de los GRA mediante la identificación de los amplicones en los geles (**Figura 6**). Los resultados se ordenaron en una base de datos, para posteriormente realizar análisis estadísticos. Descrito en la “etapa 3” del esquema de trabajo de laboratorio (**Figura 7**).



**Figura 6.** Proceso de electroforesis. a) solución de agarosa al 2% con TBS en espera de enfriamiento (frasco), cámara de electroforesis con el molde y los peines en posición (flechas negras) donde la solución de agarosa será vertida y gelificado a temperatura ambiente; b) buffer de carga en papel cera (flechas) listo para ser mezclado con el amplicón del gen de interés de cada una de las muestras; c) pozos cargados dentro del gel de agarosa al 2% (flechas).



**Figura 7.** Esquema de trabajo de laboratorio, donde se muestran las tres principales etapas en el procesamiento de cada una de las muestras; etapa 1 (en negro) lavado y aislamiento de ADN bacteriano; etapa 2 (en azul) PCR punto final; etapa 3 (en verde) electroforesis y visualización del gel de agarosa. *Fuente propia.*

## Análisis estadístico

Las variables cualitativas se expresaron como frecuencias y porcentajes, Mientras que los datos cuantitativos se expresaron como promedios, desviaciones estándar y rango. Para determinar el tipo de distribución de las variables se realizó la prueba de Kolmogórov-Smirnov. Para detectar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para las variables cuantitativas se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba Kruskal-Wallis, y para las cualitativas la prueba exacta de Fisher. La significancia estadística se estableció en  $p < 0.05$  utilizando el paquete estadístico GraphPath Prism.

## Aspectos éticos y de bioseguridad

Esta investigación cumplió con los principios éticos de respeto a la autonomía, beneficencia, no maleficencia y justicia conforme a la Declaración de Helsinki, las Normas Oficiales Mexicanas (NOM-012-SSA3-2012 y NOM-087-ECOL-SSA1-2002), los lineamientos del Comité de Bioética y del H. Consejo Académico de la Facultad de Medicina (SAFM/330/23). Todas las personas participantes firmaron el consentimiento informado voluntariamente, se garantizó la confidencialidad de los datos y el respeto a la dignidad de los participantes.

La recolección, transporte, procesamiento y disposición final de muestras biológicas humanas se llevó a cabo conforme al Reglamento de la Ley General de Salud en materia de disposición de órganos, tejidos y cadáveres (Capítulos I, III y IX), así como a la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y la NOM-052-SEMARNAT-2005 sobre la clasificación de residuos peligrosos biológico-infecciosos.

Recolección y transporte de muestras:

- Las muestras fueron trasladadas exclusivamente desde la COFM-UAQ al Laboratorio de Investigación Odontológica Multidisciplinaria de la UAQ.
- Se utilizaron recipientes herméticos, transportados en gradillas verticales dentro de hieleras para muestras biológicas.
- El laboratorio receptor contó con un espacio previamente asignado para su almacenamiento.
- El personal encargado estuvo capacitado en manejo seguro y en la adopción de precauciones ante recipientes dañados o con fugas.

Bioseguridad en laboratorio:

- Se utilizaron batas, guantes, gafas y dispositivos de protección facial durante todas las actividades experimentales.
- El personal realizó lavado de manos antes y después de cada procedimiento.
- Se respetaron las restricciones de consumo de alimentos, bebidas y uso de cosméticos en las zonas de trabajo.
- La ropa de laboratorio se mantuvo separada de la ropa de calle.

#### Procedimientos y manejo de incidentes:

- Se documentaron y notificaron todos los derrames, accidentes o exposiciones reales o potenciales.
- Se aplicaron protocolos escritos para la limpieza y descontaminación de superficies.

#### Eliminación de residuos:

- Los desechos no infecciosos fueron reciclados o eliminados como basura común.
- El material punzocortante contaminado se depositó en recipientes especiales a prueba de perforación.
- El material infeccioso fue tratado en autoclave antes de su reutilización o disposición final.
- Los residuos patológicos se conservaron a  $\leq 4^{\circ}\text{C}$  en áreas designadas con sistemas de refrigeración adecuados.
- Los geles de agarosa con bromuro de etidio se manejaron como un residuo peligroso químico, donde se colocaron en bolsas selladas plásticas etiquetada como “residuos de bromuro de etidio”.
- La recolección de las muestras y residuos es recolectada por empresas autorizadas en el tratamiento de los residuos peligrosos.



## VI. Resultados

Se entrevistó a un total de 187 personas que asistieron al área de Admisión y Diagnóstico de la COFM-UAQ, así como al CADIMSS, empleando cuatro preguntas iniciales para la selección: i) edad; ii) hábito tabáquico; iii) consumo de antibióticos en los últimos tres meses; y iv) limpieza dental realizada en los últimos seis meses. A partir de estos criterios, se seleccionaron 127 personas conforme a la anamnesis inicial. Posteriormente, se incluyeron 120 personas (representando el 100% del grupo final tras la evaluación clínica), quienes fueron distribuidos en cuatro grupos de 30 integrantes cada uno.

La distribución de las variables edad, índice de masa corporal (IMC) y sexo fue homogénea en todos los grupos. Aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas, se identificó una tendencia hacia un mayor promedio de edad e IMC en los dos grupos diagnosticados con DMT2 (**Cuadro 3**).

Se identificaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de glucosa plasmática entre los grupos analizados. En particular, el grupo con DMT2+PE presentó concentraciones significativamente más altas de glucemia en comparación con los grupos control, PE y DMT2 ( $p < 0.0001$ ; **Cuadro 3**). Estas diferencias sugieren una posible interacción entre la condición metabólica y el estado periodontal que podría influir en la respuesta glucémica local al momento de la toma de muestra.

La totalidad de la población analizada en este estudio contaba con cobertura de salud en el sistema público mexicano. De los 60 pacientes diagnosticados con DMT2, 49 (81.6%) refirieron mantener seguimiento de su enfermedad en instituciones públicas; además, un 46.6% reportó asistir a clínicas privadas, principalmente consultorios médicos anexos a farmacias, para dicho control. Únicamente el 23.3% informó realizar monitoreo personal domiciliario mediante PRGP. La mayoría de las personas con DMT2 incluidas (76.6%) indicaron no efectuar un monitoreo individual adecuado con glucómetro portátil, lo que atribuyeron fundamentalmente a: i) desconocimiento del uso del dispositivo, ii) uso

inconsistente del glucómetro, y iii) limitaciones económicas. No se identificaron diferencias significativas relacionadas con el nivel educativo entre los grupos analizados.

**Cuadro 3.** Características clínicas de las personas incluidas en los cuatro grupos

Grupo	Control (n=30)	PE (n=30)	DMT2 (n=30)	DMT2+PE (n=30)	Valor- <i>p</i>
<b>Promedio ± DE</b>					
<b>(Rango)</b>					
Edad (Años)	51.53±9.32 (32-65)	53.93±8.24 (35-66)	51.8±10.81 (26-68)	56.46±7.63 (41-65)	0.1327 <sup>a</sup>
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26.96±4.24 (19.37-36.98)	27.26±5.29 (19.45-40.10)	28.24±3.56 (22.59-36.73)	29.55±5.55 (22.7-52.58)	0.1466 <sup>a</sup>
PRGP (mg/dL)	101.16±15.26 (57-136)	118.73±24.47 (74-200)	144.1±31.55 (97-230)	180.2±67.04 (104-300)	<0.0001 <sup>a*</sup>
<b>Frecuencia %</b>					
Mujer	20 (66.6)	18 (60.0)	17 (56.60)	20 (66.6)	0.8109 <sup>b</sup>
Hombre	10 (33.3)	12 (40.0)	13 (43.3)	10 (33.3)	

PE: Periodontitis; DMT2: Diabetes mellitus tipo 2; DMT2+PE: Diabetes mellitus tipo 2 más periodontitis; DE: Desviación estándar; IMC: Índice de masa corporal; PRGP: Prueba rápida de glucosa plasmática. <sup>a</sup>:ANOVA; <sup>b</sup>:Prueba de chi cuadrada; \*:Significancia estadística.

El análisis ANOVA reveló diferencias significativas en las concentraciones de glucosa entre los grupos ( $p<0.0001$ ). Por lo que se aplicó la prueba *post hoc* de Tukey. El grupo DMT2 presentó concentraciones de glucosa significativamente superiores al control ( $p<0.001$ ). El grupo DMT2+PE también mostró valores significativamente más altos frente al control, al grupo de PE e incluso el de DMT2 (todas con un valor de  $p<0.0001$ ). No hubo diferencias entre los grupos control y PE ni entre PE y DMT2.

La distribución de los estadios de enfermedad periodontal (**Cuadro 4**) entre los grupos PE y DMT2+PE no evidenció diferencias estadísticamente significativas

( $p=0.189$ ). Si bien el grupo DMT2+PE presentó una mayor proporción de casos en estadio IV (63.3% frente a 40%), esta diferencia no alcanzó significancia estadística. En conjunto, estos resultados indican que la presencia concomitante de DMT2 no se asoció significativamente con una mayor gravedad periodontal en la población analizada (**Cuadro 4**).

**Cuadro 4.** Gravedad de la enfermedad periodontal en los grupos de PE y DMT2+PE

Grupo	PE (n=30)	DMT2+PE (n=30)	Valor- <i>p</i>
	Frecuencia (%)		
<b>Estadio II</b>	4 (13.3)	2 (6.6)	0.189
<b>Estadio III</b>	14 (46.6)	9 (30)	
<b>Estadio IV</b>	12 (40)	19 (63.3)	

Prueba chi cuadrada; PE: Periodontitis; DMT2+PE: Diabetes mellitus tipo 2 más periodontitis; **Estadio I** (pérdida de inserción clínica 1-2 mm, pérdida ósea radiográfica en el 1/3 coronal <15%, sin pérdida dentaria por periodontitis). **Estadio II** (pérdida de inserción clínica 3-4 mm, pérdida ósea radiográfica en el 1/3 coronal 15-30%, sin pérdida dentaria por periodontitis). **Estadio III** (pérdida de inserción clínica  $\geq 5$  mm, pérdida ósea radiográfica con extensión al 1/3 medio y apical, pérdida dentaria  $\leq 4$  por periodontitis). **Estadio IV** (pérdida de inserción clínica  $>5$  mm, pérdida ósea radiográfica con extensión al 1/3 medio y apical, pérdida dentaria  $\geq 5$  por periodontitis).

Uno de los criterios clínicos utilizados en la clasificación del “estadio” periodontal es la pérdida de dientes debido a periodontitis, lo que hizo pertinente analizar los dientes cariados, obturados y perdidos por caries (índice CPOD). En el análisis mediante Kruskal-Wallis con prueba *post hoc* de Dunn (ajuste Bonferroni) reveló diferencias significativas en el número de dientes sanos entre los grupos Control vs. PE ( $p=0.021$ ), Control vs. DMT2+PE ( $p<0.001$ ) y DMT2 vs. DMT2+PE ( $p=0.001$ ), evidenciando una disminución progresiva en salud dentaria asociada a la presencia de comorbilidades como lo son la DMT2 y la PE. Asimismo, se observaron diferencias en dientes perdidos entre los grupos Control vs. PE ( $p=0.006$ ), Control vs. DMT2 ( $p=0.021$ ) y Control vs. DMT2+PE ( $p<0.001$ ), lo que sugiere un impacto acumulativo de la DMT2 y la PE sobre la pérdida dentaria, relevante para estrategias

clínicas preventivas y terapéuticas. Finalmente, el grupo con DMT2+PE presentó el valor más alto de índice CPOD general (4.16), seguido por el grupo con PE (3.68), en comparación con los grupos sin enfermedad periodontal (Control y DMT2, con índices CPOD general de 2.93 y 2.84 respectivamente) (**Cuadro 5**).

**Cuadro 5.** Distribución del índice CPOD y sus elementos evaluados

Elementos e Índice	Control (n= 30)	PE (n= 30)	DMT2 (n= 30)	DMT2+PE (n= 30)	Valor-p
	Promedio ± DE (Rango)				
Diente sano	14.73±6.79 (1-26)	9.26±6.98 (0-25)	13.03±7.38 (0-26)	6.06±5.07 (0-17)	0.001*
Cariados	4.60±4.39 (0-17)	5.53±5.28 (0-23)	3.30±2.15 (0-7)	4.60±2.06 (1-9)	0.202
Perdidos	1.53±2.04 (0-6)	4.03±2.98 (0-8)	3.73±3.06 (0-8)	5.26±2.90 (0-8)	0.001*
Obturados	5.60±4.31 (0-16)	5.17±3.99 (0-15)	4.33±3.77 (0-12)	6.80±3.44 (0-13)	0.083
CPOD	11.73±5.45 (2-22)	13.90±5.57 (0-23)	11.40±5.13 (2-20)	16.70±3.39 (9-22)	0.001*
CPOD (N=120)					
Índice					
CPOD general	2.93	3.68	2.84	4.16	-

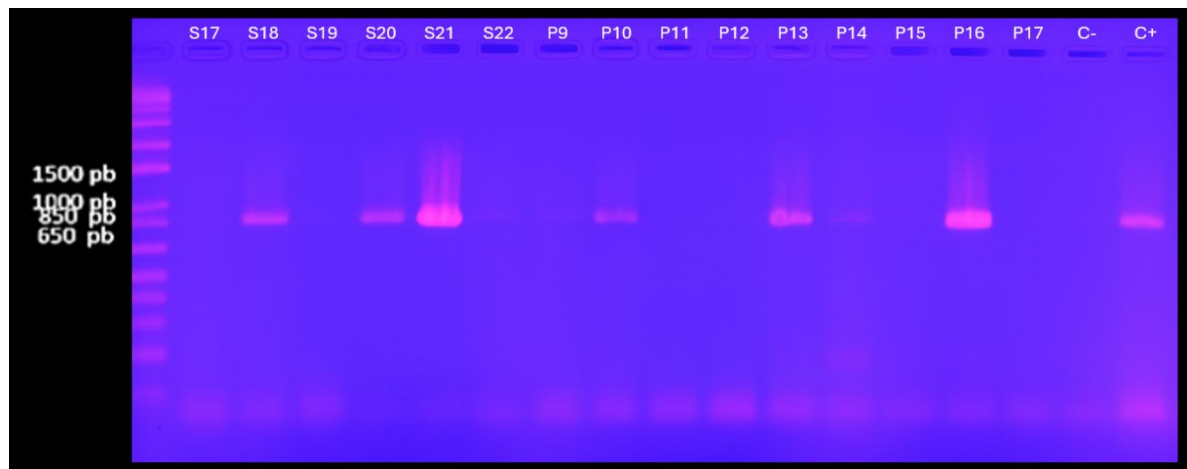
CPOD: Índice de dientes cariados, perdidos y obturados; DMT2: Diabetes mellitus tipo 2; PE: Periodontitis; DMT2+PE: Diabetes mellitus tipo 2 más periodontitis; DE: Desviación estándar; \*: Significancia estadística; Kruskal-Wallis (Dunn *post hoc* [Bonferroni]): **Diente sano** (Control vs. PE [ $p=0.021$ ], Control vs. DMT2+PE [ $p<0.001$ ], DMT2 vs. DMT2+PE [ $p=0.001$ ]); **Perdidos** (Control vs. PE [ $p=0.006$ ], Control vs. DMT2 [ $p=0.021$ ], Control vs. DMT2+PE [ $p<0.001$ ]); **CPOD** (Control vs. DMT2+PE [ $p<0.001$ ], DMT2 vs. DMT2+PE [ $p<0.001$ ]).

Las comparaciones por pares mediante la prueba de Dunn, con corrección de Bonferroni, mostraron diferencias significativas entre los grupos Control y PE, Control y DMT2+PE, y DMT2 vs. DMT2+PE. La presencia simultánea de DMT2 y enfermedad periodontal se asocia a alteraciones notables en la variable de dientes sanos.

En cuanto al número de dientes perdidos, se observaron diferencias entre el grupo control y los grupos PE, DMT2 y DMT2+PE, sin embargo, no se detectaron diferencias significativas entre estos últimos. Estos hallazgos sugieren que la

pérdida dentaria es prevalente en pacientes que presentan PE, DMT2 o la coexistencia de ambas patologías.

A la totalidad de las muestras de placa microbiana oral de las 120 personas reclutadas se les realizó aislamiento de ADN, seguido de la PCR punto final para determinar la presencia de ocho GRA. En la **Figura 8** se muestra un gel de agarosa representativo con las bandas de ADN amplificado de uno de los genes de interés (*tetQ*).



**Figura 8.** Gel de agarosa teñido con bromuro de etidio, visualización con luz UV de amplicones del gen *blaTEM* mediante transiluminador. Se observan pozos cargados con amplicones de muestras de personas sin enfermedades sistémicas (S17 a S22), personas con periodontitis (P9 a P16); así como los controles positivos (C+) y negativo (C-).

En cuanto a la distribución de GRA en la población muestreada, *tetQ* y *ermB* fueron los más frecuentes (71.6% y 60.8% respectivamente). El gen que se presentó en menor frecuencia fue *ermC* con apenas 4.1% (**Cuadro 6**).

**Cuadro 6.** Prevalencia de genes de resistencia a antibióticos en la totalidad de individuos

N=120								
<i>GRA</i>	<i>tetW</i>	<i>blaTEM</i>	<i>ermB</i>	<i>cfxA</i>	<i>ermC</i>	<i>tetQ</i>	<i>mecA</i>	<i>ermA</i>
n	63	56	73	37	5	86	30	35
%	52.5	46.6	60.8	30.8	4.1	71.6	25.0	29.1

El 99.1% de la población estudiada presentó por lo menos un GRA. La existencia de distintos GRA en un mismo individuo fue un parámetro de diversidad, la mayoría de las personas presentaron entre uno y cuatro GRA. Interesantemente, tanto los individuos del grupo control como los del grupo de PE presentaron de uno a tres genes en un 56.6% y 66.6% respectivamente. En el grupo de DMT2 mayormente presentaron de cuatro a cinco GRA (52.6%) y finalmente en el grupo de DMT2+PE se proyectaron arriba de tres GRA hasta en un 73.2%. Solo dos personas presentaron hasta seis GRA. Se observó preocupantemente que la mayoría de los grupos posee hasta cuatro GRA distintos (**Cuadro 7**).

**Cuadro 7.** Frecuencia de muestras positivas a diferentes GRA de forma simultanea

# GRA	Control (n= 30)	PE (n= 30)	DMT2 (n= 30)	DMT2+PE (n= 30)	Valor-p
Frecuencia (%)					
Seis	1 (3.3)	1 (3.3)	0	0	0.5654
Cinco	2 (6.6)	3 (10)	5 (16.6)	5 (16.6)	0.5606
Cuatro	10 (33.3)	5 (16.6)	11 (36)	5 (16.6)	0.1479
Tres	6 (20)	6 (20)	9 (30)	12 (40)	0.2470
Dos	6 (20)	9 (30)	4 (13.3)	8 (26.6)	0.4203
Uno	5 (16.6)	5 (16.6)	1(3.3)	0	0.0401*
Cero	0	1 (3.3)	0	0	0.6452

GRA: Genes de resistencia antimicrobiana; PE: Periodontitis; DMT2: Diabetes mellitus tipo 2; DMT2+PE: Diabetes mellitus tipo 2 más periodontitis; \*: Significancia estadística. Prueba de chi cuadrada.

El gen *tetQ* se presentó de manera consistente en todos los grupos analizados ( $p=0.9832$ ). En contraste, el gen *blaTEM* mostró una menor frecuencia en personas

con DMT2, mientras que el gen *ermB* se observó con mayor prevalencia en los grupos sin PE. Por otro lado, el gen *ermC* no estuvo presente en personas con PE; sin embargo, el gen *cfxA* se encontró aumentado en este mismo grupo en comparación con los demás ( $p=0.0036$ ). En las personas con DMT2 se detectó un incremento significativo de los genes *tetW* ( $p=0.0101$ ) y *ermA* ( $p=0.0001$ ). Finalmente, el gen *mecA* exhibió una mayor prevalencia en personas aparentemente sanas sin diagnóstico de PE ni DMT2+PE (**Cuadro 8**).

**Cuadro 8.** Distribución de ocho genes de resistencia a antibióticos

GRA	Control (n=30)	PE (n=30)	DMT2 (n=30)	DMT2+PE (n=30)	Valor-p
Frecuencia (%)					
<i>tetW</i>	9 (30.0)	14 (46.7)	20 (66.7)	20 (66.7)	0.0101*
<i>blaTEM</i>	17 (56.7)	16 (53.3)	10 (33.3)	13 (43.3)	0.2595
<i>ermB</i>	22 (73.3)	11 (36.7)	24 (80.0)	16 (53.3)	0.0021*
<i>cfxA</i>	4 (13.3)	14 (46.7)	4 (13.3)	5 (16.7)	0.0036*
<i>ermC</i>	3 (10.0)	0 (0.0)	1 (3.3)	1 (3.3)	0.2652
<i>tetQ</i>	21 (70.0)	22 (73.3)	22 (73.3)	21 (70.0)	0.9832
<i>mecA</i>	12 (40.0)	3 (10.0)	6 (20.0)	9 (30.0)	0.0460*
<i>ermA</i>	3 (10.0)	2 (6.7)	18 (60.0)	12 (40.0)	< 0.0001*

PE: Periodontitis; DMT2: Diabetes mellitus tipo 2; DMT2+PE: Diabetes mellitus tipo 2 y periodontitis; \*: Significancia estadística. Prueba de chi cuadrada

## VII. **Discusión**

La cavidad oral alberga más de 700 especies de microorganismos capaces de actuar como reservorio de GRA (Almeida et al., 2020; Vázquez-Ramos et al., 2022). El tejido gingival, hueso alveolar, ligamento periodontal y cemento dental conforman el periodonto; estos tejidos en estados de salud brindan unión y sostén a los dientes dentro de la cavidad oral (Meyle & Chapple, 2015). La PE es un estado inflamatorio crónico distinguido por dos eventos complejos: i) interacciones moleculares entre biopelículas patógenas supra y subgingivales y ii) el estado inmunológico del huésped, estos mecanismos en estados patológicos resultarían en una destrucción progresiva e irreversible del periodonto (Almeida et al., 2020; Tonetti et al., 2018). La DMT2 mal controlada es considerada como uno de los factores de riesgo más importantes en presentaciones graves de PE (Wu et al., 2020). A pesar de esto aún se tienen cuantiosas interrogantes del papel que desempeña la microbiota oral como reservorio de los principales mecanismos de RA en personas con diagnóstico de DMT2 y PE, por lo que el presente estudio se centró en describir patrones de presentación de los principales GRA en este nicho patológico oral de personas expuestas a estados hiperglucémicos crónicos.

La RA es una de las principales amenazas a la salud pública global (Darby et al., 2023). La exposición acentuada de agentes antimicrobianos conlleva una diseminación de GRA, estos genes se propagan por mecanismos conjugativos gracias a la formación de biopelículas patógenas. Esto es aún más preocupante en poblaciones con una sobreutilización de antibióticos, como en el caso de personas con DMT2 (Boyanova & Mitov, 2013).

La DMT2 es una enfermedad pandémica (Sanz et al., 2018), y según la Federación Internacional de Diabetes (IDF), su prevalencia ha aumentado dramáticamente en las últimas décadas. En 2021, se estimaba que 537 millones de adultos vivían con diabetes, y este número se proyecta que alcance los 783 millones para 2045 (International Diabetes Federation, 2021), por lo cual, la comunidad internacional es cada vez más consciente de que la diabetes es una amenaza monumental para la



salud mundial, que plantea desafíos cada vez mayores para la salud pública y los sistemas de atención de la salud en todo el mundo (Ong et al., 2023).

En el presente estudio, la evaluación se centró únicamente en el grado de severidad de la enfermedad periodontal inicial utilizando criterios primarios; no se incluyó la progresión de la enfermedad periodontal considerando la DMT2 como factor influyente en el control de la patología (Kornman & Papapanou, 2020). Aunque las diferencias entre los grupos con diagnóstico de periodontitis no fueron estadísticamente significativas ( $p=0.189$ ), se observó una tendencia a mayor severidad periodontal en el grupo DMT2+PE, predominando el Estadio IV. Este resultado es coherente con investigaciones previas que relacionan la DMT2 con una progresión más rápida de la enfermedad periodontal, potencialmente explicada por mecanismos inflamatorios, inmunológicos y microvasculares. Esta tendencia podría indicar la necesidad de enfoques diagnósticos y terapéuticos específicos en pacientes con comorbilidades metabólicas (Montero et al., 2024; Ziukaite et al., 2018).

Aunque se consideraron las diferencias en edad, sexo y glucemia entre los grupos al interpretar los resultados, no se realizó un ajuste estadístico multivariado. Por tanto, no puede descartarse la influencia de variables residuales como el control glucémico prolongado o la presencia de comorbilidades. Se requieren estudios longitudinales que incluyan mediciones continuas de hemoglobina glicosilada y marcadores inflamatorios para clarificar la relación causal.

Los datos sociodemográficos aquí reportados, como la edad, mostraron que las personas que presentaban tanto DMT2 como PE tienen en promedio una edad mayor ( $56.46 \pm 7.63$ ) en comparación con los demás grupos; estos datos podrían ser los primeros en describir la edad de prevalencia en un grupo de personas con ambas patologías. Estos resultados estarían sustentados principalmente porqué: i) el envejecimiento es un factor de riesgo considerable tanto en la DMT2 como en la PE, ii) ambas son enfermedades crónicas no transmisibles que se presentan con mayor frecuencia en personas adultas y iii) el pico de mayor prevalencia esta entre

los 60 años en el caso de la PE y los 65 años para las personas con DMT2 (Chen et al., 2021; Ong et al., 2023; Sanz et al., 2018). Aunado a esto, las principales guías de práctica clínica recomiendan un cribaje de la DMT2 a partir de los 35 años (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2024; Secchi-Nicolás et al., 2024). Motivos por los cuales la población seleccionada para esta investigación estuvo conformada entre los 35 y los 65 años.

De la misma manera, el IMC en este estudio se reportó aumentado en el grupo con PE+DMT2 ( $29.46 \pm 5.55$ ). Esto podría estar asociado a los reportes previos que han descrito a la obesidad como uno de los factores de riesgo más importantes en la presentación de la DMT2 (Sczepanik et al., 2020) y recientemente también asociado a la aparición de la PE (Reytor-González et al., 2024). Si a esto le sumamos que siete de cada diez mexicanos presentan sobrepeso y obesidad, predisposición genética particularmente alta en la población mexicana en desarrollar la DMT2 (Montoya et al., 2023) y por lo tanto también PE (Preshaw & Bissett, 2019), explicaría que gran parte que la población aquí estudiada con diagnóstico de DMT2+PE presentara un IMC mayor en personas con ambas patologías.

Aunque todas las personas de este estudio tenían cobertura de salud principalmente en el sistema público, el padecer DMT2 es un desafío personal en cuanto al adecuado monitoreo y control. Incluso se puede decir que el sistema de salud público mexicano ha sido ineficiente en contrarrestar la enfermedad, esto explicaría las cifras cada vez más preocupantes en el 2021 como el aumento de las tasas de incidencia en la población menor de 55 años, un ascenso de la enfermedad notable en mujeres de 20 a 49 años y aumento en las tasas de mortalidad en hombres desde los 35 a 89 años. Aunque la detección y la atención de la DMT2 es un programa prioritario solo el 12.2% de las personas accede a una prueba de tamizaje, 35% de las personas diagnosticadas logra un control glucémico óptimo, y el 9% recibe atención médica adecuada (Montoya et al., 2023).

Si a las estrategias insuficientes del sistema de salud público mexicano en cuanto a la prevención de la DMT2, le sumamos la inexistente o nula participación del

servicio de odontología para el diagnóstico inicial de la DMT2, implicaría que se podría estar pasando por alto una gran parte de la población subdiagnosticada con la enfermedad. Los servicios de salud oral pueden ser estratégicos en el escudriño de la DMT2 en la consulta de rutina. Ver al servicio de odontología (público o privado) únicamente como el responsable de tratar las principales complicaciones bucales asociadas a la diabetes ya es un razonamiento arcaico. Potencializar la participación del profesional de la salud oral en programas de detección de la enfermedad puede implicar una contribución trascendente en revertir las cifras tan preocupantes en el control de la diabetes en México.

Lo anterior se sustenta acorde a parámetros internacionales, con acciones de importancia global llevadas a cabo por la Organización Mundial de la Salud (OMS), Servicios Nacionales de Salud en Reino Unido, Organización Mundial de Médicos Familiares, IDF, Federación Europea de Periodontología (Yonel et al., 2023) y la Asociación Americana de Diabetes (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2024), los cuales ya incorporan la participación de los servicios de odontología dentro de sus guías de práctica clínica, y esto ha impactado de manera positiva las políticas de salud tanto en el diagnóstico como en la prevención de diabetes.

El control y educación de la salud bucal en la población vulnerable mexicana tampoco muestra un panorama favorable. A pesar de la creación de la dirección de odontología por parte de la Secretaría de Salud (SSA) en la década de los 60, y después de implementar programas prioritarios en indicadores de salud bucal en 1981 con metas y objetivos en reducir los índices de los dos problemas fundamentales como lo son la caries y la PE (Medina-Solis et al., 2006), en México la PE sigue siendo un problema de salud actual con un índice periodontal comunitario estancado en un 58.8%, según el sistema de vigilancia epidemiológica reportado en por lo menos dos sexenios (Secretaría de Salud, 2017, 2024).

Interesantemente los resultados aquí obtenidos sugieren que la mayor pérdida de dientes podría estar asociada principalmente a la enfermedad periodontal en

comparación con la caries. Lo anterior debido a que los índices de CPOD son bajos en los grupos de personas que no presentan enfermedad periodontal (2.93 en el grupo control y 2.84 en el grupo de DMT2). Incluso los pacientes que viven con diabetes sin periodontitis tienen un CPOD ligeramente inferior al de personas sanas, lo cual sugiere la necesidad de explorar posibles factores de confusión (edad, hábitos y el adecuado control glucémico).

También es importante destacar que los índices de CPOD son elevados en personas con diagnóstico conjunto de DMT2 + PE, en este grupo de personas también se observa el mayor número de individuos con un estadio IV de severidad en la enfermedad periodontal: lo que sugiere que los mecanismos destructivos tanto dentales como periodontales también son potenciados a la inflamación crónica y al deterioro metabólico sistémico acelerando el deterioro de la salud bucodental en general.

En un vago contraste en México los servicios de salud privados como la consulta odontológica y la asistencia a medicina preventiva son los servicios menos visitados en este sector (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2023), estos datos podrían resultar en diferentes deducciones desde una apatía en la salud general del individuo, o de manera contraria una baja incidencia o inclusive inexistencia de patologías bucales como la PE y/o sistémicas en el caso de la DMT2 en una parte de la población que no acude a servicios de salud pública. Lo que sí es seguro es que la desigualdad en la salud en el contexto latinoamericano es una realidad, tanto que ha sido descrita como un “mosaico epidemiológico” (Medina-Solis et al., 2006). La salud en la población mexicana, aunque tiene su particularidad biológica en cada individuo, tiene determinantes sociales y ambientales; por lo que, el mejoramiento de la salud puede consumarse a través de acciones a nivel individual, de la prestación de servicios individuales y comunitarios, y de las intervenciones en salud pública. Por todo lo anterior podemos decir que, a grandes rasgos, los esquemas de educación dental en las universidades, los servicios clínicos en el sector público

y privado, y los esquemas preventivos de cubrimiento masivo conforman un mosaico inconexo (Medina-Solis et al., 2006).

En este estudio, los pacientes con diagnóstico de DMT2 tenían por lo menos cinco años con la enfermedad determinó acorde a las probabilidades de la aparición de complicaciones por la DMT2. Este tiempo supondría resultados más estables para describir los patrones de presentación de la RA. Ya que el 75% de la población tiene una progresión lenta de las principales comorbilidades por diabetes y el tiempo en que pueden llegar a presentarse es muy heterogéneo. Sin embargo, una parte grande de la población puede desarrollar una progresión rápida de las complicaciones asociadas a DMT2 y las cuales pueden comenzar a suscitarse después de dos años de haberse dado el diagnóstico (Thomas et al., 2018).

Concentraciones sistémicas persistentes  $\geq 200$  mg/dl ( $\geq 11.1$  mmol/l) de glucosa en sangre sugieren un pobre control de la DMT2. Y la hiperglucemia mal controlada es la principal causante de la aparición de las complicaciones por la diabetes y hace que los pacientes con diabetes sean susceptibles a distintas infecciones recurrentes, tanto del tracto urinario, de vías aéreas como neumonía, piel, incluido el pie diabético, osteomielitis, peritonitis, PE, tuberculosis o incluso infecciones potencialmente mortales como una sepsis. Lo anterior se asocia estrechamente con la disminución significativa en la función de los neutrófilos, lo que implica una pérdida de hasta un 50% de su capacidad para fagocitar patógenos. Estas alteraciones en los neutrófilos contribuyen así a un desequilibrio de las comunidades microbianas en distintos nichos del cuerpo humano, incluyendo los diferentes microambientes de la cavidad oral (Allen et al., 2011; Boyanova & Mitov, 2013).

Las PRGP en la selección de los pacientes aquí incluidos, se centró en garantizar que la población sin diagnóstico DMT2 no perteneciera a un grupo de personas con un subdiagnóstico de la enfermedad, por tal motivo los individuos con sospecha de prediabetes y que cumplían con el resto de los criterios de selección se incluyeron en los grupos de personas sin la enfermedad (Control y PE). Esto con base en las guías de práctica clínica donde recomiendan que una glucemia en ayunas mayor a

126 mg/dl o una glucosa plasmática postprandial a las 2 horas mayor a 199 mg/dl son criterios para el diagnóstico de DMT2 (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2024; Secchi-Nicolás et al., 2024).

Interesantemente, en los resultados de esta investigación se observa un aumento significativo en las concentraciones de glucosa plasmática ( $180.2 \pm 57.04$ ) en ayunas de los pacientes pertenecientes al grupo de DMT2+PE ( $P=0.0001$ ). Estos datos podrían ser explicados por la asociación positiva entre los estados hiperglucémicos y la presencia de PE (Preshaw & Bissett, 2019). Sin embargo, los efectos adversos bidireccionales que ocurren entre estas dos enfermedades suelen ser independientes, lo que representa que un mal control de cada una de ellas por separado podría agravar aún más la condición clínica de la otra (Morita et al., 2012; Preshaw & Bissett, 2019).

Por otro lado, en el contexto de la relación PE-DMT2, se ha destacado la posibilidad de que los periodontopatógenos ingresen al torrente sanguíneo, lo que podría provocar bacteriemia, y como resultado, una respuesta inflamatoria sistémica o también denominada “inflamación metabólica”. En este proceso se reclutan células inmunitarias como los neutrófilos y los linfocitos T en tejidos metabólicos, como el hígado o el tejido adiposo. Durante este proceso, dichas células, liberan citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$ , interleucina (IL)-1 $\beta$ , IL-6 y el inhibidor del activador de plasminógeno (PAI)-11, además de la proteína C-reactiva, que favorecen un estado de estrés oxidativo periférico (Blasco-Baque et al., 2016; Meyle & Chapple, 2015; Morita et al., 2012). A largo plazo, esta inflamación contribuye al daño de las células- $\beta$  pancreáticas y las células endoteliales. La reacción inflamatoria encabezada principalmente por TNF- $\alpha$  y la proteína C-reactiva tiene un efecto acumulativo sobre la resistencia a la insulina, ya que afecta la señalización de los receptores de insulina al activar el sistema inmune innato. Asimismo, los estados proinflamatorios mencionados contribuyen al daño vascular, lo que afecta la señalización de la insulina en el tejido endotelial (Kim et al., 2020). Entonces, en el contexto de la inflamación sistémica de bajo grado, donde

se desencadena la disbiosis de la microbiota periodontal, se ha indicado a *Fusobacterium nucleatum* como uno de los principales periodontopatógenos asociados con la resistencia a la insulina (Shoer et al., 2023). Lo anterior podría explicar las concentraciones ( $180.2 \pm 57.04$ ) significativamente altas ( $p=0.0001$ ) de glucosa plasmática observadas en el grupo DMT2+PE en comparación con el grupo control.

El microbioma oral aún ha sido poco estudiado si lo comparamos con el microbioma más abundante, que es el intestinal. La tendencia en los estudios de biomas es el aprovechamiento de tecnologías “libres de cultivo” como lo es la secuenciación de ADN de nueva generación (NSG). Esto ha podido mitigar algunas limitantes en el estudio de biomas orales, ya que tan solo se conoce el nombre oficial del 57% de las especies bacterianas de la cavidad oral y solo el 70% ha podido ser cultivable (Willis & Gabaldón, 2020). Estos estudios metagenómicos han asistido y confirmado muchos de los nexos entre la composición bacteriana oral con estados de salud y enfermedad ya sea local o sistémica. Por lo que la PE no solo se ha asociado con la DMT2 sino con diversas enfermedades sistémicas en las que se encuentran enfermedades cardiovasculares, Alzheimer, fibrosis quística, cáncer colorrectal, cáncer pancreático, cáncer de esófago y artritis reumatoide (Bui et al., 2019; Szczepanik et al., 2020; Sharma et al., 2016; Willis & Gabaldón, 2020).

Gracias al proyecto del microbioma humano se ha podido dilucidar que el microbioma oral es el segundo más abundante, y a diferencia de los principales nichos del cuerpo humano reportados, como lo son el tracto gastrointestinal, genitourinario, tracto respiratorio, piel y sangre, el microbioma oral ha exhibido la presencia de material genético en todos ellos. Dicha relación no la presenta ninguno de los demás microbiomas; esto quiere decir que ocurre una THG entre nichos distantes, con una estimación de más del 60% si se compara con la THG que ocurre en el mismo nicho. Esto abre la posibilidad de la diseminación de genes de resistencia y virulencia entre los diferentes nichos existentes dentro del cuerpo humano (Baron et al., 2018; Jeong et al., 2019).

Los estudios con tecnología NSG en PE han observado que el enriquecimiento taxonómico bacteriano de la cavidad oral en personas con y sin PE en ausencia de enfermedades sistémicas no es significativo (Almeida et al., 2020). Incluso la composición de la biopelícula oral en personas con DMT2 y PE tampoco muestra cambios significativos con respecto a los grupos control. Sin embargo, la cronicidad de la PE y un pobre control de la DMT2 (HbA1c >8%) sí se han reportado con diferencias significativas en cuanto al enriquecimiento bacteriano. Y la principal hipótesis es que las concentraciones de glucosa elevadas en suero y posteriormente en el líquido crevicular podrían estimular el crecimiento selectivo de bacterias, facilitando el crecimiento de bacterias fermentadoras Gram positivas facultativas como estreptococos, lactobacilos y *Actinomyces* (Casarin et al., 2013).

No obstante, pese a las tecnologías que permiten el análisis de genomas completos para identificación de taxones bacterianos, la falta de identificación directa de genes ha limitado potencialmente la comprensión de los distintos microbiomas (Ranjan et al., 2016). Si a esto le sumamos que el microbioma oral es genéticamente más variable que el microbioma intestinal, ya que dos cepas de la misma especie pueden diferir de su composición genética hasta en un 5%. Esto genera fenotipos y efectos distintos en el huésped que pueden pasar desapercibidos en los análisis de composición (Shoer et al., 2023). Por tal motivo, el actual proyecto precisa la evidencia molecular en cuanto a la prevalencia de ocho GRA en la microbiota oral de personas con PE y compromiso sistémico como la DMT2.

De acuerdo con el análisis realizado por PCR punto final, los resultados mostraron una alta prevalencia con diferencias significativas de los genes *tetW*, *ermB* y *ermA* en los grupos de DMT2 y DMT2+PE. Esto sugiere que estas condiciones podrían estar asociadas con un mayor riesgo de adquirir y mantener estos GRA en la microbiota oral. De la misma manera se observó una presencia alta del gen *tetQ* en los cuatro grupos de estudio, lo cual coincide con informes previos vinculados como el gen de mayor prevalencia en la biopelícula subgingival de individuos con PE crónica (Brooks et al., 2022). Interesantemente, los genes mencionados están



vinculados a la protección ribosomal de las células bacterianas (Blair et al., 2015; Darby et al., 2023).

Los genes *tetQ* y *tetW* que confieren resistencia a tetraciclinas son genes implicados en codificar proteínas de protección ribosomal para la subunidad 30S, y las cuales actuarían como factores de elongación en el proceso de traducción, permitiendo la síntesis proteica bacteriana aún en presencia de estos fármacos (Dönhöfer et al., 2012; Nguyen et al., 2014). En el presente estudio, *tetQ* fue el gen de resistencia más prevalente (71.6%), lo que sugiere una presión selectiva sostenida hacia la resistencia a tetraciclinas en la biopelícula oral. Esta alta frecuencia podría explicarse por el uso histórico de tetraciclinas en la población estudiada y por la amplia distribución de *tetQ* en especies comensales y patógenas, lo que favorece su presencia transversal en todos los grupos analizados, incluyendo individuos aparentemente sanos.

Por otro lado, los genes *ermA*, *ermB* y *ermC* codifican la resistencia a macrólidos, estudios *in silico* han demostrado que el mecanismo se basa en la dimetilación de un residuo de adenina en su grupo amino del anillo de 6 átomos; esta acción ocurre antes del ensamblaje de la unidad 70S, específicamente en la subunidad 50S en el ARNr23S, y debido a la incapacidad del grupo dimetilamino para servir como donante de un enlace hidrógeno no podría participar en la coordinación una molécula de agua, además estos grupos metilo desplazan físicamente a la molécula de agua, dejando a la desosamina sin un socio para el enlace de hidrógeno; modificando el sitio e impidiendo la unión de los macrólidos en la unidad ribosomal 50S (Beckert et al., 2021; Svetlov et al., 2021).

Los genes *ermB* y *ermA* mostraron una distribución amplia, principalmente en individuos con DMT2; en contraste, el gen *ermC* presentó una prevalencia muy baja (4.1%) en todos los grupos. Esta baja prevalencia podría indicar que su capacidad de adaptación ecológica es limitada dentro de la microbiota oral, específicamente en las biopelículas periodontales. Además, *ermC* tiene una menor frecuencia de transferencia interfilo, posiblemente por estar asociado a plásmidos no conjugativos

con menor compatibilidad entre los filos dominantes en biopelículas periodontales. Esto contrasta con *tetQ*, el cual se transfiere activamente entre los filos principales como Firmicutes y Proteobacterias (Parras-Moltó et al., 2025). Por lo que no está clara la presencia de *ermC* en biopelículas supra y subgingivales y podría estar mayormente vinculado a nichos específicos, como el conducto radicular, donde se ha reportado con mayor frecuencia (Brooks et al., 2022; Vázquez-Ramos et al., 2022).

La coexistencia de genes *erm* y *tet* en la microbiota oral, particularmente en pacientes con comorbilidades como DMT2 y periodontitis, sugiere una dinámica de coselección y transferencia horizontal que merece ser analizada desde una perspectiva filogenética y ecológica. Dentro de los resultados reportados por Moreira y colaboradores en 2020 con respecto a la prevalencia de GRA en enfermedad periodontal, la variante *erm* fue la más frecuente (58.2%) (Almeida et al., 2020). Los resultados aquí reportados coinciden con la presencia de genes *ermB* y *ermA* en personas sanas y con PE; sin embargo, están aumentados en presencia de DMT2.

El que la alta prevalencia de resistencia a tetraciclinas vaya de la mano con el aumento de genes que codifican resistencia a los macrólidos en el presente estudio, podría ser explicado por el fenómeno de coselección. Pues tanto los genes *erm* como los *tet* suelen estar contenidos en transposones conjugativos de la familia Tn916, elementos genéticos móviles que albergan múltiples genes y confieren resistencia a diferentes antibióticos de los cuales también se suman la kanamicina y algunos antisépticos (Ciric et al., 2011, 2012). Evento que abre la posibilidad de la adquisición de resistencia cruzada por la exposición a bajas concentraciones de clorhexidina, antiséptico de uso habitual en el control de biopelículas orales (Cieplik et al., 2019). Esto es particularmente preocupante ya que tanto las tetraciclinas como los macrólidos son de uso común en infecciones no solo de la cavidad oral si no en infecciones de otros sitios del cuerpo humano, la resistencia dada por estos

genes podría complicar el tratamiento de diversas infecciones en pacientes con diagnóstico tanto de diabetes como de periodontitis en un solo individuo.

Los genes de resistencia a betalactámicos, particularmente los relacionados con la producción de la enzima betalactamasa como blaTEM, no mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre los cuatro grupos estudiados; no obstante, se observó una presencia considerable. Esto coincide con reportes previos de biopelículas orales provenientes del conducto radicular con presencia de periodontitis periapical, en los cuales se exhibió una prevalencia elevada tanto en personas sanas como en personas con DMT2; en este mismo informe el gen *cfxA* si presentó diferencia estadística en cuanto su presencia aumentada en personas con DMT2 (Vázquez-Ramos et al., 2022). En el presente estudio, el gen *cfxA*, el cual habla de resistencia a cefalosporinas, no estuvo aumentado en dos de los grupos esperados, DMT2 y DMT2+PE. Interesantemente, su presencia fue significativamente mayor dentro del grupo de PE en comparación con los demás grupos.

Finalmente, *mecA* que confiere resistencia a la meticilina, gracias a que codifica proteínas de unión a penicilinas 2a (PBP2a), una enzima responsable de la reticulación de los peptidoglicanos en la pared celular bacteriana. Dicha enzima tiene una baja afinidad por los  $\beta$ -lactámicos, por lo que resulta en una resistencia a toda esta clase de antibióticos (Turner et al., 2019). Anteriormente se pensaba que *mecA* tenía una frecuencia de transmisión limitada entre *Streptococcus aureus*. Sin embargo, ahora es bien sabido que el gen *mecA* es transportado por muchas especies de estafilococos además de *S. aureus*, aunque aún se desconoce su mecanismo de transferencia específico (Katayama et al., 2000). Las implicaciones de que las bacterias orales posean resistencia a meticilina a través de *mecA* es realmente amenazante para la salud humana. Especialmente en contextos hospitalarios donde las infecciones por *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) son preocupantes tanto en México como en Latinoamérica, por enfermedades potencialmente mortales como la endocarditis bacteriana, neumonía,

osteomielitis, infección de prótesis articulares e infecciones de piel y tejidos blandos (Yoo et al., 2018; Turner et al., 2019; Negrete-González et al., 2020; Leme et al., 2021). Estos hallazgos mostraron la presencia de este GRA aumentado en personas del grupo control, pese a ello, un porcentaje considerablemente alarmante (30%) de individuos con DMT2+PE presento el gen. Así que su relevancia clínica radica en la ya descrita plausibilidad de una potencial bacteriemia y, por lo tanto, la THG en nichos distantes favorecida por la PE. Por lo que se recomienda seguir evaluando otros nichos simultáneamente, como sangre o infecciones en piel en el caso del pie diabético, para determinar si la presencia de este gen tiene relación con la pobre respuesta a los fármacos empleados.

Así mismo se observó que los individuos con DMT2, con o sin PE, tienen una mayor prevalencia a partir de más de cuatro GRA en comparación con el grupo control. Esto podría estar relacionado con la alteración del ambiente microbiano debido a la hiperglucemia, que se ha descrito como un factor que predispone al individuo a infecciones recurrentes y al uso frecuente de antibióticos, lo que a su vez confluente en la selección de cepas resistentes (Boyanova & Mitov, 2013).

Si comparamos los reportes previos en los patrones de presentación de GRA en periodontitis apical (Vázquez-Ramos et al., 2022), tienen una distribución diferente a los hallazgos aquí reportados, donde en la placa microbiana oral supra y subgingival predominó la presencia de GRA enfocados en la protección ribosomal como los genes *tet* y *erm* principalmente en personas con DMT2. Las diferentes formas de presentación de patrones de resistencia a antibióticos en dos diferentes nichos de la cavidad oral podrían atribuirse a la biogeografía microbiana, con una organización espacial tanto en estructura como en composición muy diferentes. Lo que afecta negativamente su riqueza ambiental pero positivamente la prevalencia de especies orales (Baker et al., 2024). Y también la inestabilidad fenotípica de la microbiota oral por la exposición a múltiples factores locales, como por ejemplo el uso de enjuagues antisépticos orales que pueden participar en las modificaciones fenotípicas del microbioma oral (Bescos et al., 2020), o la exposición a diferentes

microbiotas orales entre humanos o animales (Pérez-Serrano et al., 2020; Shoer et al., 2023).

Según nuestra hipótesis, el grupo DMT2+PE fue el de mayor riesgo, pues muestra una tendencia a tener más GRA por individuo que los otros grupos, sugiriendo una sinergia negativa en la diabetes y la periodontitis que podría fomentar la adquisición y resistencia de GRA de manera acelerada.

A pesar de que se observó que las concentraciones de glucosa en el momento de la toma de muestra con la PRGP fueron muy heterogéneas, del total de individuos solo se reportaron 19 (15.8%) con glucosa de más de 180 mg/dL, por lo tanto, profundizar en conocer si las concentraciones de glucosa plasmática con HbA1c >8% pueden tener una asociación positiva o negativa en la presentación de GRA es imperativo para investigaciones futuras.

Dentro de las implicaciones clínicas, nos encontramos con la dificultad de tratamiento debido a la presencia de múltiples GRA en pacientes con DMT2+PE, lo que podría complicar notablemente el tratamiento de infecciones orales o infecciones distantes en estos pacientes, aumentando el riesgo de fallos terapéuticos. Este hecho resalta lo fundamental y necesario de mantener un enfoque basado en la vigilancia de las comorbilidades de cada paciente, dando cada vez más importancia a la medicina individualizada.

Los resultados también enfatizan que la selección de antibióticos para estos pacientes debería ser cuidadosa, tratando de evitar aquellos antibióticos a los que se muestra una resistencia significativa, lo que nuevamente nos impulsaría al paso de la personalización del tratamiento en la medicina en lugar de seguir enfoques generalizados.

La personalización del tratamiento antibiótico podría estar basada en pruebas de sensibilidad como la PCR que proporciona información específica con un enfoque basado en la evidencia molecular y reduce la probabilidad de prescribir antibióticos inadecuados, minimizando la exposición innecesaria y disminuyendo la presión

selectiva que conduce a una resistencia antibiótica mayor, propiciando una terapia dirigida a las necesidades individuales de estos pacientes, minimizando el impacto en la microbiota comensal oral y del tracto digestivo, así como previniendo la exacerbación de estas enfermedades crónicas y relacionadas al aumento de GRA.

La presente investigación generó datos relevantes en el entendimiento de los patrones de RA desde distintos ángulos, siendo uno de los primeros reportes que aborda a pacientes con DMT2 y PE. La descripción aquí mostrada puede ser un preámbulo en donde se puedan encontrar obstáculos de evolución hacia la resistencia de los patógenos mediante análisis de la abundancia y el patrón de resistencia en la microbiota humana en contextos ecológicos y distintas situaciones sistémicas del huésped, que nos permitan predecir la situación de resistencia regional, e indirectamente también proporcionar indicaciones del uso histórico de antibióticos. Esto se superpone con los principales objetivos de la vigilancia clínica clásica de la resistencia, que es fundamental para guiar el tratamiento empírico, evaluar las intervenciones e identificar tendencias regionales y temporales de la resistencia (Larsson & Flach, 2022).

Las perspectivas del grupo de trabajo están dirigidas a la medicina personalizada, monitoreo y ajuste de tratamiento de acuerdo con las comorbilidades del paciente. Así como prevención de la resistencia a largo plazo y uso racional de los antibióticos. Adicionando un impacto en la calidad de vida del paciente con condiciones complejas como son la DMT2 y la PE.

## VIII. **Conclusión**

La presencia de GRA en la microbiota de la cavidad oral de personas con diabetes y comorbilidades como la enfermedad periodontal mostraron una diversidad aumentada en la presentación de patrones de GRA como eritromicina y tetraciclinas principalmente, y en menor medida a los betalactámicos.

Entender los patrones de RA regionales es crítico para reconocer patrones globales de resistencia y mejorar el uso de antibióticos, por lo que también, la presencia de múltiples GRA observada en el grupo control confirma que la vigilancia es vital para observar el comportamiento de la RA. Mayores estudios encaminados a la variedad de antibióticos utilizados por región, el control en su prescripción y la presencia de GRA en diferentes nichos del cuerpo humano en este tipo de población son imperativos para profundizar en los patrones de RA.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- Aiuto, F. D., Gkranias, N., Bhowruth, D., Khan, T., Orlandi, M., Suvan, J., Masi, S., Tsakos, G., & Hurel, S. (2021). Systemic effects of periodontitis treatment in patients with type 2 diabetes: a 12 month, single-centre, investigator-masked, randomised trial. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 6(12), 954-965. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(18\)30038-X](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)30038-X)
- Akash, M. S. H., Rehman, K., Fiayyaz, F., Sabir, S., & Khurshid, M. (2020). Diabetes-associated infections: development of antimicrobial resistance and possible treatment strategies. *Archives of Microbiology*, 202(5), 953–965. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01818-x>
- Albert, D. A., Ward, A., Allweiss, P., Graves, D. T., Knowler, W. C., Kunzel, C., Leibel, R. L., Novak, K. F., Oates, T. W., Panos, N., Schmidt, A. M., Taylor, G. W., Lamster, I. B., & Lalla, E. (2012). Diabetes and oral disease: implications for health professionals. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1255(5), 1–15. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06460.x>
- Allen, E. M., Matthews, J. B., O'Halloran, D. J., Griffiths, H. R., & Chapple, I. L. (2011). Oxidative and inflammatory status in Type 2 diabetes patients with periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 38(10), 894–901. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01764.x>
- Almeida, V. de S. M., Azevedo, J., Leal, H. F., Queiroz, A. T. L. de, da Silva Filho, H. P., & Reis, J. N. (2020). Bacterial diversity and prevalence of antibiotic resistance genes in the oral microbiome. *PLoS ONE*, 15(9), e0239664. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239664>
- Alvarenga, M. O. P., Miranda, G. H. N., Ferreira, R. O., Saito, M. T., Fagundes, N. C. F., Maia, L. C., & Lima, R. R. (2021). Association Between Diabetic Retinopathy and Periodontitis—A Systematic Review. *Frontiers in Public Health*, 8(8), p550614. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.550614>
- Allen EM, Matthews JB, O' Halloran DJ, Griffiths HR, Chapple IL. (2011). Oxidative and inflammatory status in Type 2 diabetes patients with periodontitis. *Journal of periodontology*, 38(10), 894–901. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01764.x>
- American Diabetes Association. Care (2020). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care*, 43(1), S14–S31. <https://doi.org/10.2337/dc20-S002>



- American Diabetes Association Professional Practice Committee. (2024). 2. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes—2024. *Diabetes Care*, 47(1), S20–S42. <https://doi.org/10.2337/dc24-S002>
- Armitage, G. C. (1999). Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Annals of Periodontology*, 4(1), 1–6. <https://doi.org/10.1902/annals.1999.4.1.1>
- Baker, J. L., Mark Welch, J. L., Kauffman, K. M., McLean, J. S., & He, X. (2024). The oral microbiome: diversity, biogeography and human health. *Nature Reviews Microbiology* 22(2), 89–104. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00963-6>
- Baquero, F., Martínez, J. L., Lanza, V. F., Rodríguez-Beltrán, J., Galán, J. C., San Millán, A., Cantón, R., & Coque, T. M. (2021). Evolutionary Pathways and Trajectories in Antibiotic Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(4), e0005019. <https://doi.org/10.1128/CMR.00050-19>
- Baron, S. A., Diene, S. M., & Rolain, J. M. (2018). Human microbiomes and antibiotic resistance. *Human Microbiome Journal*, 10(12), 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.humic.2018.08.005>
- Beceiro, A., Tomás, M., & Bou, G. (2012). Antimicrobial resistance and virulence: A beneficial relationship for the microbial world? *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30(8), 492–499. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.01.011>
- Beckert, B., Leroy, E. C., Sothiselvam, S., Bock, L. V., Svetlov, M. S., Graf, M., Arenz, S., Abdelshahid, M., Seip, B., Grubmüller, H., Mankin, A. S., Innis, C. A., Vázquez-Laslop, N., & Wilson, D. N. (2021). Structural and mechanistic basis for translation inhibition by macrolide and ketolide antibiotics. *Nature Communications*, 12(1), 4466. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24674-9>
- Bello-Chavolla, O. Y., Rojas-Martinez, R., Aguilar-Salinas, C. A., & Hernández-Avila, M. (2017). Epidemiology of diabetes mellitus in Mexico. *Nutrition Reviews*, 75(suppl 1), 4–12. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw030>
- Bescos, R., Ashworth, A., Cutler, C., Brookes, Z. L., Belfield, L., Rodiles, A., Casas-Agustench, P., Farnham, G., Liddle, L., Burleigh, M., White, D., Easton, C., & Hickson, M. (2020). Effects of Chlorhexidine mouthwash on the oral microbiome. *Scientific Reports*, 10(1), 5254. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61912-4>
- Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology* 13(1), 42–51). <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
- Blasco-Baque, V., Garidou, L., Pomié, C., Escoula, Q., Loubieres, P., Le Gall-David, S., Lemaitre, M., Nicolas, S., Klopp, P., Waget, A., Azalbert, V., Colom, A., Bonnaure-

- Mallet, M., Kemoun, P., Serino, M., & Burcelin, R. (2016). Periodontitis induced by *Porphyromonas gingivalis* drives periodontal microbiota dysbiosis and insulin resistance via an impaired adaptive immune response. *Gut*, 66(5), 872–885. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309897>
- Boland, B. B., Rhodes, C. J., & Grimsby, J. S. (2017). The dynamic plasticity of insulin production in  $\beta$ -cells. *Molecular Metabolism*, 6(9), 958–973. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.04.010>
- Borgnakke WS, Ylöstalo PV, Taylor GW, Genco RJ. (2013). Effect of periodontal disease on diabetes : systematic review of epidemiologic observational evidence. *Journal of Periodontology*, 84(4 suppl) S135-S152. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.1340013>
- Boyanova, L., & Mitov, I. (2013). Antibiotic resistance rates in causative agents of infections in diabetic patients: Rising concerns. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 11(4), 411–420. <https://doi.org/10.1586/eri.13.19>
- Brooks, L., Narvekar, U., McDonald, 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(4), 133–153. <https://doi.org/10.1111/omi.12375>
- Bui, F. Q., Almeida-da-Silva, C. L. C., Huynh, B., Trinh, A., Liu, J., Woodward, J., Asadi, H., & Ojcius, D. M. (2019). Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomedical Journal*, 42(1), 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.12.001>
- Bunney, P. E., Zink, A. N., Holm, A. A., Billington, C. J., & Kotz, C. M. (2017). Orexin activation counteracts decreases in nonexercise activity thermogenesis (NEAT) caused by high-fat diet. *Physiology and Behavior*, 176(3), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- Burmeister, A. R. (2015). Horizontal Gene Transfer. *Evolution, Medicine, and Public Health*, 2015(1), 193–194. <https://doi.org/10.1093/emph/eov018>
- Buset, S. L., Walter, C., Friedmann, A., Weiger, R., Borgnakke, W. S., & Zitzmann, N. U. (2016). Are periodontal diseases really silent? A systematic review of their effect on quality of life. *Journal of Clinical Periodontology*, 43(4), 333–344. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12517>
- Casarin, R. C. V., Barbagallo, A., Meulman, T., Santos, V. R., Sallum, E. A., Nociti, F. H., Duarte, P. M., Casati, M. Z., & Gonçalves, R. B. (2013). Subgingival biodiversity in subjects with uncontrolled type-2 diabetes and chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 48(1), 30–36. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2012.01498.x>

- Chen, M. X., Zhong, Y. J., Dong, Q. Q., Wong, H. M., & Wen, Y. F. (2021). Global, regional, and national burden of severe periodontitis, 1990–2019: An analysis of the Global Burden of Disease Study 2019. *Journal of Clinical Periodontology*, 48(9), 1165–1188. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13506>
- Christensen, A. A., & Gannon, M. (2019). The Beta Cell in Type 2 Diabetes. *Current Diabetes Reports*, 19(9), 81. <https://doi.org/10.1007/s11892-019-1196-4>
- Cieplik, F., Jakubovics, N. S., Buchalla, W., Maisch, T., Hellwig, E., & Al-Ahmad, A. (2019). Resistance toward chlorhexidine in oral bacteria-is there cause for concern? *Frontiers in Microbiology*, 10(3) 587. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00587>
- Ciric, L., Ellatif, M., Sharma, P., Patel, R., Song, X., Mullany, P., & Roberts, A. P. (2012). Tn916-like elements from human, oral, commensal streptococci possess a variety of antibiotic and antiseptic resistance genes. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39(4), 360–361. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.12.007>
- Ciric, L., Mullany, P., & Roberts, A. P. (2011). Antibiotic and antiseptic resistance genes are linked on a novel mobile genetic element: Tn6087. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(10), 2235–2239. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr311>
- Crabbé, A., Jensen, P. Ø., Bjarnsholt, T., & Coenye, T. (2019). Antimicrobial Tolerance and Metabolic Adaptations in Microbial Biofilms. *Trends in Microbiology*, 27(10), 850–863. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.05.003>
- Darby, E. M., Trampari, E., Siasat, P., Gaya, M. S., Alav, I., Webber, M. A., & Blair, J. M. A. (2023). Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nature Reviews Microbiology* 21(5) 280–295. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00820-y>
- Demmer, R. T., Jacobs, D. R., Jr, & Desvarieux, M. (2008). Periodontal disease and incident type 2 diabetes: results from the First National Health and Nutrition Examination Survey and its epidemiologic follow-up study. *Diabetes care*, 31(7), 1373–1379. <https://doi.org/10.2337/dc08-0026>
- Dommisch, H., & Kerschull, M. (2021). Chapter 27 Chronic Periodontitis. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology* (Thirteenth). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-52300-4.00027-8>
- Dönhöfer, A., Franckenberg, S., Wickles, S., Berninghausen, O., Beckmann, R., & Wilson, D. N. (2012). Structural basis for TetM-mediated tetracycline resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(42), 16900–16905. <https://doi.org/10.1073/pnas.1208037109>
- Fu, Z., R. Gilbert, E., & Liu, D. (2012). Regulation of Insulin Synthesis and Secretion and Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes. *Current Diabetes Reviews*, 9(1), 25–53. <https://doi.org/10.2174/157339913804143225>

- Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 1–34. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>
- Halban, P. A., Polonsky, K. S., Bowden, D. W., Hawkins, M. A., Ling, C., Mather, K. J., Powers, A. C., Rhodes, C. J., Sussel, L., & Weir, G. C. (2014).  $\beta$ -Cell failure in type 2 diabetes: Postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 99(6), 1983–1992. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-1425>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2023). Nota técnica: Estadísticas de salud en establecimientos particulares (ESEP) 2023. *INEGI*. [https://www.inegi.org.mx/contenidos/programas/salud/doc/salud\\_2023\\_nota\\_tecnica.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/programas/salud/doc/salud_2023_nota_tecnica.pdf)
- International Diabetes Federation. (2021). IDF Diabetes Atlas (10th ed.). [https://diabetesatlas.org/media/uploads/sites/3/2025/02/IDF\\_Atlas\\_10th\\_Edition\\_2021.pdf](https://diabetesatlas.org/media/uploads/sites/3/2025/02/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf)
- Jeong, H., Arif, B., Caetano-Anollés, G., Kim, K. M., & Nasir, A. (2019). Horizontal gene transfer in human-associated microorganisms inferred by phylogenetic reconstruction and reconciliation. *Scientific Reports*, 9(1), 5953. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42227-5>
- Kanehisa M. (2019). Toward understanding the origin and evolution of cellular organisms. *Protein science: a publication of the Protein Society*, 28(11), 1947–1951. <https://doi.org/10.1002/pro.3715>
- Katayama, Y., Ito, T., & Hiramatsu, K. (2000). A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(6), 1549–1555. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.6.1549-1555.2000>
- Kim, G. R., Choi, D. W., Nam, C. M., Jang, S. I., & Park, E. C. (2020). Synergistic association of high-sensitivity C-reactive protein and body mass index with insulin resistance in non-diabetic adults. *Scientific Reports*, 10(1), 18417. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75390-1>
- Kornman, K. S., & Papapanou, P. N. (2020). Clinical application of the new classification of periodontal diseases: Ground rules, clarifications and “gray zones”. *Journal of Periodontology*, 91(3), 352–360. <https://doi.org/10.1002/JPER.19-0557>
- Larsson, D. G. J., & Flach, C. F. (2022). Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*, 20(5), 257–269. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>

- Leme, R. C. P., Bispo, P. J. M., & Salles, M. J. (2021). Community-genotype methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections in Latin America: a systematic review. *The Brazilian journal of infectious diseases: an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*, 25(1), 101539. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2021.101539>
- Ley, R. E., Lozupone, C. A., Hamady, M., Knight, R., & Gordon, J. I. (2008). Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota. *Nature Reviews Microbiology*, 6(10), 776–788. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1978>
- Madsen, J. S., Burmølle, M., Hansen, L. H., & Sørensen, S. J. (2012). The interconnection between biofilm formation and horizontal gene transfer. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 65(2), 183–195. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2012.00960.x>
- Medina-Solis, C. E., Maupomé, G., Avila-Burgos, L., Pérez-Núñez, R., Pelcastre-Villafuerte, B., & Pontigo-Loyola, A. P. (2006). Políticas de salud bucal en México: Disminuir las principales enfermedades. Una descripción. *Revista Biomédica*, 17, 269–286. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v17i4.466>
- Meyle, J., & Chapple, I. (2015). Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology 2000*, 69(1), 7–17. <https://doi.org/10.1111/prd.12104>
- Montero, E., Bujaldón, R., Montanya, E., Calle-Pascual, A. L., Rojo-Martínez, G., Castaño, L., Franch-Nadal, J., Delgado, E., Chaves, F., Alonso, B., Sanz, M., & Herrera, D. (2024). Cross-sectional association between severe periodontitis and diabetes mellitus: A nation-wide cohort study. *Journal of Clinical Periodontology*, 51(4), 368–379. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13937>
- Montoya, A., Gallardo-Rincón, H., Silva-Tinoco, R., García-Cerde, R., Razo, C., Ong, L., Stafford, L., Lenox, H., & Tapia-Conyer, R. (2023). Epidemia de diabetes tipo 2 en México. Análisis de la carga de la enfermedad 1990-2021 e implicaciones en la política pública. *Gaceta Médica de Mexico*, 159(6), 474–486. <https://doi.org/10.24875/GMM.M24000835>
- Morita, I., Inagaki, K., Nakamura, F., Noguchi, T., Matsubara, T., Yoshii, S., Nakagaki, H., Mizuno, K., Sheiham, A., & Sabbah, W. (2012). Relationship between periodontal status and levels of glycated hemoglobin. *Journal of Dental Research*, 91(2), 161–166. <https://doi.org/10.1177/0022034511431583>
- Negrete-González, C., Turrubartes-Martínez, E., Galicia-Cruz, O. G., Noyola, D. E., Martínez-Aguilar, G., Pérez-González, L. F., González-Amaro, R., & Niño-Moreno, P. (2020). High prevalence of t895 and t9364 spa types of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary-care hospital in Mexico: Different lineages of

- clonal complex 5. *BMC Microbiology*, 20(1), 213. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01881-w>
- Nguyen, F., Starosta, A. L., Arenz, S., Sohmen, D., Dönhöfer, A., & Wilson, D. N. (2014). Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms. *Biological chemistry*, 395(5), 559–575. <https://doi.org/10.1515/hsz-2013-0292>
- Núñez, S. A., Lacal, V., Núñez, J., Serruto, G., Zárate, M. S., & Verón, M. T. (2020). Antibiotic Resistance in Community-Acquired Intra-Abdominal Infections: Diabetes Mellitus as a Risk Factor. *Surgical Infections*, 21(1), 62–68. <https://doi.org/10.1089/sur.2019.032>
- Ong, K. L., Stafford, L. K., McLaughlin, S. A., Boyko, E. J., Vollset, S. E., Smith, A. E., Dalton, B. E., Duprey, J., Cruz, J. A., Hagins, H., Lindstedt, P. A., Aali, A., Abate, Y. H., Abate, M. D., Abbasian, M., Abbasi-Kangevari, Z., Abbasi-Kangevari, M., Abd ElHafeez, S., Abd-Rabu, R., ... Vos, T. (2023). Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet*, 402(10397), 203–234. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)01301-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01301-6)
- Parras-Moltó, M., Lund, D., Ebmeyer, S., Larsson, D. G. J., Johnning, A., & Kristiansson, E. (2025). The transfer of antibiotic resistance genes between evolutionarily distant bacteria. *mSphere*, 10(6), e0011425. <https://doi.org/10.1128/msphere.00114-25>
- Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D. H., Flemmig, T. F., Garcia, R., Giannobile, W. V., Graziani, F., Greenwell, H., Herrera, D., Kao, R. T., Kebschull, M., Kinane, D. F., Kirkwood, K. L., Kocher, T., Kornman, K. S., Kumar, P. S., ... Tonetti, M. S. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Periodontology*, 89(3), S173–S182. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0721>
- Pérez-Serrano, R. M., Domínguez-Pérez, R. A., Ayala-Herrera, J. L., Luna-Jaramillo, A. E., Zaldivar-Lelo de Larrea, G., Solís-Sainz, J. C., García-Solís, P., & Loyola-Rodríguez, J. P. (2020). Dental plaque microbiota of pet owners and their dogs as a shared source and reservoir of antimicrobial resistance genes. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 21, 285–290. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.03.025>
- Podolsky, S. H. (2018). The evolving response to antibiotic resistance (1945–2018). *Palgrave Communications*, 4(124). <https://doi.org/10.1057/s41599-018-0181-x>
- Polak, D., & Shapira, L. (2018). An update on the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(2), 150–166. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12803>

- Polonsky, K. S. (2012). The Past 200 Years in Diabetes. *New England Journal of Medicine*, 367(14), 1332–1340. <https://doi.org/10.1056/nejmra1110560>
- Preshaw, P. M., & Bissett, S. M. (2019). Periodontitis and diabetes. *British Dental Journal*, 227(7), 577–584. <https://doi.org/10.1038/s41415-019-0794-5>
- Ranjan, R., Rani, A., Metwally, A., McGee, H. S., & Perkins, D. L. (2016). Analysis of the microbiome: Advantages of whole genome shotgun versus 16S amplicon sequencing. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 469(4), 967–977. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.12.083>
- Reytor-González, C., Parise-Vasco, J. M., González, N., Simancas-Racines, A., Zambrano-Villacres, R., Zambrano, A. K., & Simancas-Racines, D. (2024). Obesity and periodontitis: a comprehensive review of their interconnected pathophysiology and clinical implications. *Frontiers in Nutrition*, 11, 1440216. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1440216>
- Sá, F., Szczepanik, C., Lima, M., Márcio, G., Goldberg, M., Glogauer, M., & Fine, N. (2020). Periodontitis is an inflammatory disease of oxidative stress: We should treat it that way. *Periodontology 2000*, 84(1), 45–68. <https://doi.org/10.1111/prd.12342>
- Sanz, M., Ceriello, A., Buysschaert, M., Chapple, I., Demmer, R. T., Graziani, F., Herrera, D., Jepsen, S., Lione, L., Madianos, P., Mathur, M., Montanya, E., Shapira, L., Tonetti, M., & Vegh, D. (2018). Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. *Journal of clinical periodontology*, 45(2), 138–149. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12808>
- Szczepanik, F. S. C., Grossi, M. L., Casati, M., Goldberg, M., Glogauer, M., Fine, N., & Tenenbaum, H. C. (2020). Periodontitis is an inflammatory disease of oxidative stress: We should treat it that way. *Periodontology 2000*, 84(1), 45–68. <https://doi.org/10.1111/prd.12342>
- Secchi-Nicolás, N. C., Lavallo-González, F. J., Garnica-Cuellar, J. C., Pavía-López, A. A., Mayorga-Butrón, J. L., Anda-Garay, J. C., Rincón-Pedrero, R., Duarte-Vega, M., Dehesa-López, E., Barrera-Cruz, R. J., Álvarez-López, J. A., Aldrete-Velasco, J., Sánchez-Hernández, C. P., Medina-López, Z., Gómez-Mendoza, R. A., Borrayo-Sánchez, G., Enciso-Muñoz, J. M., Hinojosa-Becerril, C. A., Torres-Tamayo, M., ... Gómez-Alarcón, Á. J. (2024). Guía mexicana de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento en pacientes adultos con diabetes tipo 2. *Revista Mexicana de Endocrinología, Metabolismo y Nutrición*, 10(92), 1-86. <https://doi.org/10.24875/rme.m23000030>

- Secretaría de Salud. (2017). *Resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB) 2015*.  
<https://www.gob.mx/salud/documentos/informes-sivepab-2015>
- Secretaría de Salud. (2024). *Resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB) 2022*.  
<https://www.gob.mx/salud/documentos/informes-sivepab-2022>
- Sharma, P., Dietrich, T., Ferro, C. J., Cockwell, P., & Chapple, I. L. C. (2016). Association between periodontitis and mortality in stages 3-5 chronic kidney disease: NHANES III and linked mortality study. *Journal of Clinical Periodontology*, 43(2), 104–113. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12502>
- Shi, B., Lux, R., Klokkevold, P., Chang, M., Barnard, E., Haake, S., & Li, H. (2020). The subgingival microbiome associated with periodontitis in type 2 diabetes mellitus. *ISME Journal*, 14(2), 519–530. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0544-3>
- Shoer, S., Shilo, S., Godneva, A., Ben-Yacov, O., Rein, M., Wolf, B. C., Lotan-Pompan, M., Bar, N., Weiss, E. I., Hourii-Haddad, Y., Pilpel, Y., Weinberger, A., & Segal, E. (2023). Impact of dietary interventions on pre-diabetic oral and gut microbiome, metabolites and cytokines. *Nature communications*, 14(1), 5384. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41042-x>
- Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C., & Kent, R. L., Jr (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of clinical periodontology*, 25(2), 134–144. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419>
- Sonnenschein, S. K., & Meyle, J. (2015). Local inflammatory reactions in patients with diabetes and periodontitis. *Periodontology 2000*, 69(1), 221–254. <https://doi.org/10.1111/prd.12089>
- Svetlov, M. S., Syroegin, E. A., Aleksandrova, E. V., Atkinson, G. C., Gregory, S. T., Mankin, A. S., & Polikanov, Y. S. (2021). Structure of Erm-modified 70S ribosome reveals the mechanism of macrolide resistance. *Nature Chemical Biology*, 17(4), 412–420. <https://doi.org/10.1038/s41589-020-00715-0>
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outterson, K., Patel, J., Cavaleri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., ... Zorzet, A. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318–327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)
- Thomas, C. C., & Philipson, L. H. (2015). Update on Diabetes Classification. *Medical Clinics of North America*, 99(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2014.08.015>



- Thomas, P. B., Robertson, D. H., & Chawla, N. V. (2018). Predicting onset of complications from diabetes: a graph-based approach. *Applied network science*, 3(1), 48. <https://doi.org/10.1007/s41109-018-0106-z>
- Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of periodontology*, 89 Suppl 1, S159–S172. <https://doi.org/10.1002/JPER.18-0006>
- Turner, N. A., Sharma-Kuinkel, B. K., Maskarinec, S. A., Eichenberger, E. M., Shah, P. P., Carugati, M., Holland, T. L., & Fowler, V. G., Jr (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nature reviews. Microbiology*, 17(4), 203–218. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0147-4>
- Vázquez-Ramos, V. R., Pérez-Serrano, R. M., García-Solís, P., Solís-Sainz, J. C., Espinosa-Cristóbal, L. F., Castro-Ruiz, J. E., & Domínguez-Pérez, R. A. (2023). Root canal microbiota as an augmented reservoir of antimicrobial resistance genes in type 2 diabetes mellitus patients. *Journal of Applied Oral Science*, 30, e20220362. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2022-0362>
- Wheatley, R., Diaz Caballero, J., Kapel, N., de Winter, F. H. R., Jangir, P., Quinn, A., del Barrio-Tofiño, E., López-Causapé, C., Hedge, J., Torrens, G., Van der Schalk, T., Xavier, B. B., Fernández-Cuenca, F., Arenzana, A., Recanatini, C., Timbermont, L., Sifakis, F., Ruzin, A., Ali, O., ... MacLean, C. (2021). Rapid evolution and host immunity drive the rise and fall of carbapenem resistance during an acute *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Nature Communications*, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22814-9>
- Willis, J. R., & Gabaldón, T. (2020). The Human Oral Microbiome in Health and Disease: From Sequences to Ecosystems. *Microorganisms*, 8(2), 308. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020308>
- Wu, C. Z., Yuan, Y. H., Liu, H. H., Li, S. S., Zhang, B. W., Chen, W., An, Z. J., Chen, S. Y., Wu, Y. Z., Han, B., Li, C. J., & Li, L. J. (2020). Epidemiologic relationship between periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *BMC Oral Health*, 20(1), 204. <https://doi.org/10.1186/s12903-020-01180-w>
- Yonel, Z., Dietrich, T., Gray, L., & Chapple, I. (2023). Early case detection of diabetes in dental practice: a missed opportunity. *British Dental Journal*, 235(9), 667. <https://doi.org/10.1038/s41415-023-6493-2>
- Yoo, Y. J., Kwak, E. J., Jeong, K. M., Baek, S. H., & Baek, Y. S. (2018). Knowledge, attitudes and practices regarding methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection control and nasal MRSA carriage rate among dental health-care

- professionals. *International Dental Journal*, 68(5), 359–366.  
<https://doi.org/10.1111/idj.12388>
- Zhao, X., Yu, Z., & Ding, T. (2020). Quorum-sensing regulation of antimicrobial resistance in bacteria. *Microorganisms*, 8(3), 1–21.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8030425>
- Ziukaite, L., Slot, D. E., & Van der Weijden, F. A. (2018). Prevalence of diabetes mellitus in people clinically diagnosed with periodontitis: A systematic review and meta-analysis of epidemiologic studies. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(6), 650–662. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12839>