



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA
UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE ODONTOLOGÍA

TANNERELLA FORSYTHIA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD PERIODONTAL DE PROGRESIÓN LENTA QUE ACUDEN A LA CLÍNICA ODONTOLÓGICA DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA, PERÍODO MARZO – AGOSTO 2019.

TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE ODONTÓLOGO

AUTORA: Moscoso Arpi Erika Fabiola

DIRECTOR: Andrade Tacuri Carlos Fernando Q.F. MSc.

CUENCA

2019

DECLARACIÓN:

Yo, **Moscoso Arpi Erika Fabiola**, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado la totalidad de las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento; y eximo expresamente a la UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

La UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la ley de propiedad intelectual, por su reglamento y normatividad institucional vigente.

.....

Autora: Moscoso Arpi Erika Fabiola

C.I.: 0106045461

CERTIFICACIÓN DEL DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN

Sra. Dra. Liliana Encalada Verdugo

COORDINADORA DEL DPTO. DE TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado “**TANNERELLA FORSYTHIA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD PERIODONTAL DE PROGRESIÓN LENTA QUE ACUDEN A LA CLÍNICA ODONTOLÓGICA DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA, PERÍODO MARZO – AGOSTO 2019**”, realizado por **MOSCOSO ARPI ERIKA FABIOLA**, ha sido inscrito y es pertinente con las líneas de investigación de la Carrera de Odontología de la Unidad Académica de Salud y Bienestar y de la Universidad, por lo que está expedito para su presentación.

Cuenca, octubre 2019

.....

Dr. Ebingen Villavicencio Caparó

DPTO. DE INVESTIGACIÓN ODONTOLÓGÍA

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Sra. Dra. Liliana Encalada Verdugo

COORDINADORA DEL DPTO. DE TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado “**TANNERELLA FORSYTHIA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD PERIODONTAL DE PROGRESIÓN LENTA QUE ACUDEN A LA CLÍNICA ODONTOLÓGICA DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA, PERÍODO MARZO – AGOSTO 2019**”, realizado por **MOSCOSO ARPI ERIKA FABIOLA**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, octubre 2019

.....

Tutor: Q.F. Andrade Tacuri Carlos Fernando MSc.

DEDICATORIA.

Dedico esta tesis a Dios, por haberme otorgado a personas valiosas como mi familia y amigos, quienes me han motivado y apoyado constantemente para culminar mi carrera y me han permitido vivir junto a ellos muchas experiencias inolvidables.

EPÍGRAFE.

"Los sueños se hacen realidad solo cuando crees en ellos"

Dulce María Espinoza

AGRADECIMIENTOS:

Agradezco a todas las personas que me han ayudado a lo largo de mi vida universitaria, a mi tutor por su constante guía y apoyo durante el desarrollo de la investigación, a los docentes quienes me han brindado enseñanzas claves para mi vida profesional. Todo esto fue posible gracias a ustedes.

LISTA DE ABREVIATURAS

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

T.: *Tannerella*

P.: *Porphyromonas*

T.: *Treponema*

A.: *Aggregatibacter*

ADN. Ácido Desoxirribonucleico

TAE. Tris Acetato EDTA

SDS: Dodecilsulfato sódico

Na (OH): Hidróxido de sodio

°C: Grados centígrados

pb: Pares de base

µl: Microlitros

V: Voltios

mA: Miliamperios

W: Watts

UV: Ultravioleta

N: Normal

ÍNDICE

RESUMEN.....	12
ABSTRACT.....	13
INTRODUCCIÓN.....	14
CAPÍTULO I.....	15
PLANTEAMIENTO TEÓRICO.....	15
1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	16
2.- JUSTIFICACIÓN.....	16
3.- OBJETIVOS.....	18
3.1.- Objetivo general:.....	18
3.2.- Objetivos específicos:.....	18
4.- MARCO TEÓRICO.....	18
4.1.- Enfermedad periodontal.....	18
4.1.a. – Definición.....	18
4.1.b.- Factores de riesgo relacionados a la enfermedad periodontal.....	18
4.1.c.-Nueva clasificación periodontal.....	19
4.1.c.1.- Periodontitis de progresión lenta.....	20
4.1.c.1.1- Definición.....	20
4.1.c.1.2.- Etiología.....	20
4.1.c.1.3.- Características clínicas de la periodontitis de progresión lenta.....	21
4.1.c.1.4.- Principales microorganismos presentes en la periodontitis de progresión lenta.....	21
4.1.d.- <i>Tannerella forsythia</i>	22
4.1.e. Identificación molecular de <i>Tannerella forsythia</i>	23
4.2.- ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.....	23
5.-HIPÓTESIS.....	25
CAPÍTULO II.....	26
PLANTEAMIENTO OPERACIONAL.....	26
1.- MARCO METODOLÓGICO.....	27
2.- POBLACIÓN Y MUESTRA.....	27
2.1.- Criterios de selección:.....	27
2.1.a.- Criterios de inclusión:.....	27
2.1.b.- Criterios de exclusión:.....	27

2.2.- Tamaño de la muestra	28
3.- OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	29
4.- INSTRUMENTOS, MATERIALES Y RECURSOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.....	30
4.1.- Instrumentos documentales	30
4.2.- Instrumentos mecánicos	30
4.3.- Materiales	30
4.4.- Recursos.....	30
5.-PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE DATOS.	31
5.1.-Ubicación espacial.....	31
5.2.-Ubicación temporal.....	31
5.3.- Procedimientos de la toma de datos.....	31
6.- PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE DATOS	33
7.- ASPECTOS BIOÉTICOS.....	34
CAPÍTULO III.....	35
RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	35
1. RESULTADOS	36
2. DISCUSIÓN.....	39
3. CONCLUSIONES.....	41
III.- BIBLIOGRAFÍA.	42
ANEXOS.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°1. Distribución de la muestra, según edad y sexo.....	36
Tabla N°2. Presencia de <i>Tannerella forsythia</i> , mediante PCR.	37
Tabla N°3. Presencia de <i>Tannerella forsythia</i> , según el sexo.	38

RESUMEN

OBJETIVO: Detectar la presencia de *Tannerella forsythia* mediante una técnica de Biología Molecular en pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta que acuden a la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca, período marzo – agosto 2019. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se realizó un estudio transversal actual, descriptivo. La población de estudio fue 41 pacientes de la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca diagnosticados con periodontitis de progresión lenta con bolsas periodontales ≥ 5 mm. Para la toma de muestras se utilizó conos de papel estériles y se transportó en el medio de Tioglicolato, para su posterior identificación, mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa. **RESULTADOS:** La técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa permitió detectar *Tannerella forsythia* en bolsas periodontales de pacientes con periodontitis de progresión lenta. Además, la presencia de *Tannerella forsythia* en la población estudiada fue de 9,8%, con un porcentaje mayor en el sexo femenino (12,5%).

PALABRAS CLAVE: *Tannerella forsythia*, Periodontitis, Reacción en Cadena de la Polimerasa.

ABSTRACT

AIM: Detect the presence of *Tannerella forsythia* through a Molecular Biology technique in patients with slow progression periodontal disease who attend the Dental Clinic of the Catholic University of Cuenca, period March - August 2019. **MATERIAL AND METHODS:** A current, descriptive cross-sectional study was conducted. The study population was 41 patients of the Dental Clinic of the Catholic University of Cuenca diagnosed with slow progression periodontitis with periodontal pockets ≥ 5 mm. For the sampling, sterile paper cones were used and transported in the Thioglycolate medium, for later identification, by the Polymerase Chain Reaction technique. **RESULTS:** The Polymerase Chain Reaction technique allowed the detection of *Tannerella forsythia* in periodontal pockets of patients with slow progression periodontitis. In addition, the presence of *Tannerella forsythia* in the population studied was 9.8%, with a higher percentage in the female sex (12.5%).

KEY WORDS: *Tannerella forsythia*, Periodontitis, Polymerase Chain Reaction.

INTRODUCCIÓN.

La enfermedad periodontal es una patología infecciosa multifactorial que afecta a la encía y a los tejidos de inserción adyacente ⁽¹⁾. En la actualidad, las enfermedades periodontales son la segunda causa de patologías orales después de la caries ⁽²⁾, se presentan principalmente en la edad adulta, y son consideradas un problema de salud pública a nivel mundial ⁽³⁾.

La periodontitis de progresión lenta, es una forma de enfermedad periodontal caracterizada por la destrucción progresiva de las estructuras de soporte dental ⁽¹⁾, que conlleva a la pérdida de inserción periodontal, pérdida ósea radiográfica y por último una posible pérdida dental ⁽⁴⁾. Además, tiene un gran impacto en el estado de salud oral y la calidad de vida de los pacientes ⁽⁵⁾.

Entre los principales microorganismos patógenos que intervienen en el desarrollo de la periodontitis de progresión lenta encontramos a las bacterias anaerobias gramnegativas: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia* ⁽⁶⁾.

Los estudios realizados en Colombia y Uruguay mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa, indican una mayor ocurrencia de *Tannerella forsythia* en pacientes con periodontitis de progresión lenta, con un 62,5% y 92%, respectivamente ^(7,8).

No se ha encontrado evidencia científica a nivel local y nacional, relacionada con el presente tema de investigación. Por ello, el objetivo de este estudio es detectar la presencia de *Tannerella forsythia* en bolsas periodontales de pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta que acuden a la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca, mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO.

1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.

En la actualidad, la periodontitis es un problema de salud pública con una elevada prevalencia a nivel mundial, que conlleva a la destrucción y pérdida de piezas dentarias y tejido óseo, si no se recibe un tratamiento oportuno. Las bacterias periodontopatógenas pertenecientes al complejo rojo son consideradas el principal factor etiológico de la periodontitis de progresión lenta.

Para la identificación de uno de los principales agentes periodontopatógenos, como lo es *Tannerella forsythia*, se requiere la utilización de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) debido a la dificultad que representa cultivarla por sus requerimientos. Internacionalmente diversos estudios han utilizado la técnica de PCR para la detección de bacterias asociadas a la enfermedad periodontal, por su alta sensibilidad y especificidad, sin embargo, no existen investigaciones a nivel nacional que utilicen este método de biología molecular para la detección de periodontopatógenos.

En cuanto a lo expuesto se planteó la siguiente pregunta: **¿Se puede desarrollar una técnica de PCR para la detección de *Tannerella forsythia* en pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta que acuden a la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca, período marzo – agosto 2019?**

2.- JUSTIFICACIÓN.

La presente investigación está enfocada en la detección de *Tannerella forsythia* en pacientes con periodontitis de progresión lenta, mediante la técnica de PCR, debido a que uno de los principales factores etiológicos es la presencia de periodontopatógenos en las bolsas periodontales. El presente estudio va dirigido a toda la comunidad científica con el objetivo de realizar un aporte a la investigación, puesto que podría servir como base para futuras investigaciones, cuyo enfoque se centre en la detección de periodontopatógenos, mediante métodos moleculares. Este estudio tiene relevancia social, porque va dirigido a la comunidad de la ciudad de Cuenca que padece este tipo de patología y al país en general, puesto que no se han realizado estudios similares a nivel nacional. La relevancia humana, se evidencia debido a que la enfermedad periodontal de progresión lenta es una de las patologías orales más comunes, por ello, representa un tema de interés para el sistema de salud nacional.

Además, beneficiaría a la comunidad con presencia de la patología estudiada, ya que la determinación de las bacterias como agentes etiológicos de la periodontitis de progresión lenta nos permitiría obtener un diagnóstico bacteriano acertado. El presente estudio tiene un nivel de originalidad a nivel local y nacional, debido a que no se han realizado estudios enfocados en la detección de *Tannerella forsythia*, mediante la técnica de PCR, en pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta. Además, nos permitiría conocer si el periodontopatógeno estudiado está presente en la población local, y en el caso de identificarlo verificar si coinciden con estudios realizados en otros países, puesto que es importante considerar las diferencias geográficas, étnicas y genéticas entre individuos de diversas poblaciones. La presente investigación es de interés personal porque me permite obtener el título universitario en la Carrera de Odontología. Este estudio está dentro de las líneas de investigación de la Universidad Católica de Cuenca y de los tópicos de investigación en la Carrera de Odontología y tienen concordancia con las políticas institucionales de la investigación.

3.- OBJETIVOS

3.1.- Objetivo general:

Detectar la presencia de *Tannerella forsythia* mediante una técnica de Biología Molecular en pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta que acuden a la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca, período marzo – agosto 2019.

3.2.- Objetivos específicos:

- ✓ Identificar *Tannerella forsythia* en pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta, mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).
- ✓ Determinar la presencia de *Tannerella forsythia* en pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta, según el sexo.

4.- MARCO TEÓRICO

4.1.- Enfermedad periodontal

4.1.a. – Definición

La enfermedad periodontal es una patología oral multifactorial ⁽⁹⁾, caracterizada por la presencia de cambios inflamatorios en las estructuras de soporte de los dientes; que con el progreso de la enfermedad provoca destrucción tisular, reducción del soporte dental, y, en última instancia, pérdida dental ⁽¹⁰⁾. Entre las enfermedades periodontales más comunes tenemos: gingivitis (proceso inflamatorio gingival reversible) y periodontitis ⁽¹¹⁾.

4.1.b.- Factores de riesgo relacionados a la enfermedad periodontal

La enfermedad periodontal es de origen multifactorial. Aunque los patógenos periodontales son necesarios, su presencia no es suficiente para que cause periodontitis de progresión lenta. La placa bacteriana es un componente decisivo en la inflamación de los tejidos periodontales, pero son los factores de riesgo del hospedador los que facilitan la progresión de esta patología ⁽¹²⁾.

Existen diversos factores que pueden desencadenar la enfermedad periodontal, entre ellos se encuentran: susceptibilidad genética ⁽¹³⁾, edad, sexo, higiene oral deficiente, estrés, restauraciones defectuosas, enfermedad periodontal preexistente ⁽¹⁴⁾, tabaquismo, enfermedades sistémicas (diabetes mellitus) ⁽¹⁵⁾, nivel socioeconómico, bajo nivel educativo, entre otros ⁽²⁾.

4.1.c.-Nueva clasificación periodontal

En la nueva clasificación periodontal se considera a la periodontitis mediante estadios y grados ⁽¹⁶⁾.

A) Estadios de la periodontitis de progresión lenta

Están delimitados por la pérdida del nivel de inserción clínica ⁽⁴⁾, depende de la severidad y el alcance de la enfermedad ⁽¹⁷⁾. Además, incluye una descripción de la extensión y distribución en la dentición ⁽¹⁸⁾.

- ❖ **Estadio I** (periodontitis inicial): presenta pérdida de inserción interproximal de 1 -2 mm en el sitio más afectado y/o pérdida ósea radiográfica en el tercio coronal (<15%) ^(4, 19).
- ❖ **Estadio II** (periodontitis moderada): existe pérdida de inserción interproximal de 3-4 mm en el sitio más afectado y/o pérdida ósea radiográfica en el tercio coronal (15-33%) ^(4, 19).
- ❖ **Estadio III** (periodontitis severa con potencial de pérdida adicional de dientes): presenta pérdida de inserción interproximal ≥ 5 mm en el sitio más afectado y/o pérdida ósea radiográfica que se extiende hasta el tercio medio o apical de la raíz dental. Asociado principalmente con la pérdida de hasta 4 piezas dentales ^(4, 19).
- ❖ **Estadio IV** (periodontitis severa con potencial pérdida de la dentición): existe pérdida de inserción interproximal ≥ 5 mm en el sitio más afectado y/o pérdida ósea radiográfica que se extiende hasta el tercio medio o apical de la raíz del diente. Se asocia con la pérdida de 5 o más piezas dentales ^(4, 19).

B) Distribución de la periodontitis

De acuerdo a los dientes afectados con periodontitis puede ser:

- ✓ Localizada (hasta el 30% de los dientes afectados)
- ✓ Generalizada (>30% de los dientes afectados) ⁽⁴⁾.

C) Grados

El grado está determinado por la velocidad y el riesgo de progresión ⁽¹⁶⁾.

Los grados son definidos de la siguiente forma:

- ❖ **Grado A (progresión lenta):** presenta leve destrucción periodontal, por ello, no existe progresión de la pérdida de inserción durante 5 años o pérdida ósea de hasta 0,25 mm. Se manifiesta principalmente en pacientes con gran acúmulo de biofilm ⁽⁴⁾.
- ❖ **Grado B (progresión moderada):** progresión de la pérdida de inserción menor a 2 mm durante 5 años o pérdida ósea de entre 0,25 – 1 mm. La destrucción periodontal es compatible con depósitos de placa bacteriana ⁽⁴⁾.
- ❖ **Grado C (rápida progresión):** presenta períodos de progresión rápida asociada con el patrón molar/incisivo. Existe progresión ≥ 2 mm durante 5 años y/o pérdida ósea superior a 1 mm. La destrucción periodontal supera las expectativas por el acúmulo de biofilm ⁽⁴⁾.

4.1.c.1.- Periodontitis de progresión lenta

4.1.c.1.1- Definición

La periodontitis de progresión lenta, conocida anteriormente como periodontitis crónica ⁽¹⁵⁾, es la forma de periodontitis más frecuente ⁽²⁰⁾. Se presenta con mayor prevalencia en la edad adulta, aunque puede desarrollarse en personas de cualquier edad ⁽²¹⁾. Se define como una enfermedad infecciosa multifactorial producida principalmente por diversos microorganismos periodontopatógenos, que conlleva a la migración del epitelio de unión hacia apical y destrucción de los tejidos de soporte dental ⁽¹¹⁾. A medida que progresa la enfermedad se puede llegar a la pérdida dental ⁽²²⁾.

4.1.c.1.2.- Etiología

La etiología de la periodontitis de progresión lenta es multifactorial ⁽²³⁾, la cual resulta de la interacción de las bacterias periodontopatógenas con la respuesta inmune del huésped ⁽²⁴⁾. Los principales agentes etiológicos en el inicio y progresión de periodontitis son las bacterias periodontopatógenas pertenecientes al complejo rojo tales como: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia* ⁽¹⁾.

4.1.c.1.3.- Características clínicas de la periodontitis de progresión lenta

La periodontitis de progresión lenta presenta las siguientes características clínicas: pérdida de inserción periodontal detectada en dos o más sitios interproximales no adyacentes; o pérdida de inserción de 3mm o más en las caras vestibular o palatina/lingual en por lo menos 2 dientes, alteraciones del color, la textura y el volumen de la encía marginal, presencia de bolsas periodontales (surco gingival profundizado por un proceso patológico), acumulación de placa supra y subgingival relacionado con la formación de cálculos, sangrado al sondaje de la zona de la bolsa periodontal, retracción del margen gingival, pérdida ósea radiográfica (horizontal o angular), exposición de furca, aumento de la movilidad dental, migración dental, suele ser indolora y en última instancia, la exfoliación de la pieza dental ^(4, 12, 20).

4.1.c.1.4.- Principales microorganismos presentes en la periodontitis de progresión lenta.

La periodontitis de progresión lenta inicia con la presencia de una biopelícula microbiana compleja en el área subgingival ⁽²⁵⁾. El complejo rojo que surge tardíamente en el desarrollo de la biopelícula, comprende especies gramnegativas consideradas patógenos importantes en la enfermedad periodontal, tales como: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia*, las mismas que se relacionan con la pérdida ósea y de inserción ⁽²⁶⁾.

También existen otras bacterias que favorecen la destrucción periodontal como *Aggregatibacter actynocetemcomitans*, *Prevotella intermedia* y *Fusobacterium nucleatum* ⁽¹⁰⁾.

La capacidad de coagregación del Fusobacterium nucleatum le permite actuar como un “puente” microbiano entre los colonizadores tempranos y tardíos durante la formación de la biopelícula, por esto se le considera como un microorganismo clave en la formación de placa bacteriana ⁽¹⁾.

4.1.d.- *Tannerella forsythia*

A) Generalidades

Tannerella forsythia, conocida anteriormente como *Bacteroides forsythus* ⁽²⁷⁾, es una bacteria Gram-negativa anaerobia estricta, inmóvil, con forma bacilar o fusiforme ⁽²⁸⁾, implicada en periodontitis de progresión lenta ⁽²⁹⁾.

B) Estructura bacteriana

Membranas: *Tannerella forsythia* presenta dos membranas: una interna y otra externa. La región localizada entre estas dos membranas se denomina espacio periplásmico, el cual contiene la pared celular que está constituida por peptidoglucano o mureína ⁽¹⁰⁾.

Lipopolisacáridos o Endotoxinas: Se encuentran en la membrana externa de los microorganismos gramnegativos y contribuyen a su integridad estructural. Tiene una vital importancia porque proveen a los microorganismos la capacidad de inducir enfermedades. Además, provocan daño tisular y reabsorción ósea ⁽¹⁰⁾.

Los lipopolisacáridos cumplen las siguientes funciones: inducen la inflamación, estimulan la síntesis de prostaglandinas, y activan los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos ⁽¹⁰⁾.

C) Factores de virulencia de *Tannerella forsythia*

- ❖ **Capa S:** es una capa superficial glicoproteica situada por fuera de la membrana externa. Está implicada en los procesos de adhesión de *Tannerella forsythia* e invasión del tejido periodontal ⁽³⁰⁾. Además, proporciona un blindaje protector ⁽²⁷⁾.
- ❖ **BspA:** es una glicoproteína que provee a *Tannerella forsythia* la capacidad de adherirse y coagregarse con otros microorganismos como *Fusobacterium nucleatum* y *Treponema denticola* ^(30, 31)
- ❖ **Proteasas:** se asocian a la destrucción del periodonto por su capacidad inmunomoduladora, al destruir citoquinas, inmunoglobulinas y complemento ⁽³⁰⁾.
- ❖ **Lipoproteínas:** son componentes de la pared celular que intervienen en la patogénesis de la periodontitis al activar las células huésped para liberar citoquinas proinflamatorias e inducir la apoptosis celular ^(27, 30).
- ❖ **Glicosidasas y sialidasas:** son enzimas capaces de desestabilizar el periodonto mediante la degradación de polisacáridos y proteoglicanos ⁽³⁰⁾.

4.1.e. Identificación molecular de *Tannerella forsythia*

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), es un método molecular altamente sensible, rápido y reproducible, que permite obtener una identificación certera de un fragmento de ADN de una célula específica, incluso en presencia de cientos de especies diferentes ^(10, 32, 33, 34). Para la detección bacteriana, se utiliza frecuentemente el ARN ribosomal 16S, debido a su presencia en todos los organismos vivos ⁽²⁶⁾.

El proceso de PCR consiste en extraer ADN para realizar su amplificación con el uso de cebadores específicos. Los reactivos son colocados en un equipo denominado termociclador, el cual permite realizar los cambios térmicos de manera precisa y rápida (para cada etapa) a los tubos de reacción ⁽³³⁾. Posteriormente, en la fase de electroforesis se produce una migración del producto amplificado y finalmente se revela el resultado mediante luz ultravioleta. ⁽¹⁰⁾.

La técnica de PCR se ha utilizado para la identificación de patógenos periodontales en muestras subgingivales, debido a que permite la detección de bacterias presentes en muy bajas concentraciones ⁽³⁵⁾.

4.2.- ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Mujica C. et al. ⁽¹⁾, realizaron un estudio acerca de la co-detección de patógenos periodontales, con el objetivo de determinar la prevalencia de estas bacterias mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa convencional, en el cual incluyeron a 67 pacientes chilenos diagnosticados con periodontitis crónica y obtuvieron como resultado que un 58% presentaba *Treponema denticola*, 30% *Tannerella forsythia*, 31% *Porphyromonas gingivalis* y 90% de *Fusobacterium nucleatum* ⁽¹⁾.

Farías B. et al. ⁽³⁾, realizaron un estudio en Brasil acerca de la ocurrencia de patógenos periodontales pertenecientes al complejo rojo (*Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* y *Treponema denticola*) y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, en 29 pacientes diagnosticados con periodontitis crónica, cuyas muestras fueron recogidas de 4 sitios con más profundidad al sondaje. De los 116 sitios de recolección obtuvieron como resultado, mediante el uso de PCR convencional: un 46,6% para *P. gingivalis*, 41,4% para *T. forsythia*, 33,6% para *T. denticola* y 27,6% para *A. actinomycetemcomitans* ⁽³⁾.

Sánchez J, García G & Spin R. ⁽⁴⁾, explican la nueva clasificación sobre las enfermedades y condiciones periodontales y Peri-implantares, con el objetivo de introducir esta clasificación actualizada en los clínicos, investigadores y estudiantes para que entre en uso frecuente y puedan aplicarla, llegando a la conclusión de que esta clasificación aunque nos indica una evaluación más completa de la condición general de nuestros pacientes, tiene falencias y fragilidades por lo que serán necesarias nuevas revisiones, así conforme avance la ciencia se irán incorporando nuevas términos, descubrimientos periodontales, pues esta clasificación fue hecha con esa intención ⁽⁴⁾.

Ardila C, Botero A & Guzmán C. ⁽⁷⁾, presentaron un estudio sobre las características microbiológicas de pacientes con periodontitis agresiva y crónica, en el que participaron 94 pacientes colombianos, de los cuales 40 fueron diagnosticados con periodontitis crónica, 40 con periodontitis agresiva y 14 controles sin periodontitis. Mediante la técnica de PCR, el resultado obtenido en la periodontitis crónica, fue un 62,5% tanto para *Tannerella forsythia* como para *Porphyromonas gingivalis* y un 5% *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; mientras que en la periodontitis agresiva presentaron el 42,5% *Porphyromonas gingivalis*, 22,5% *A. actinomycetemcomitans* y 17,5% *T. forsythia* ⁽⁷⁾.

Papone V. et al. ⁽⁸⁾, publicaron un artículo sobre la detección y prevalencia de patógenos periodontales, cuyo objetivo fue identificar cuáles de las 5 especies de microorganismos: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* y *Fusobacterium nucleatum*, se presentaban en las bolsas periodontales de 51 pacientes uruguayos diagnosticados con periodontitis crónica, mediante el uso de técnicas convencionales microbiológicas y metagenómica. Mediante la técnica microbiológica convencional, la presencia de *A. actinomycetemcomitans* fue de un 33% y bacterias negras anaerobias con un 100%, y con la multiplex-PCR, las más prevalentes fueron *F. nucleatum*, *T. forsythia* y *P. gingivalis* con 100%, 92%, 88%, respectivamente ⁽⁸⁾.

Cosac C. et al. ⁽⁹⁾, en un artículo denominado cuantificación relativa de *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, realizaron un estudio en Rumania a 259 pacientes de los cuales 179 presentaron enfermedad periodontal, con el objetivo de detectar los patógenos periodontales antes mencionados, mediante la técnica de PCR cuantitativa en tiempo real. En esta investigación obtuvieron como resultado la presencia de *A.*

actinomycetemcomitans, *T. denticola*, *T. forsythia* y *P. gingivalis*, en un 24%, 85%, 88% y 91% de los casos, respectivamente ⁽⁹⁾.

Bazzano G. et al. ⁽¹¹⁾, evaluaron la composición microbiológica de la terapia mecánica periodontal, en bolsas periodontales ≥ 5 mm, mediante la técnica de PCR. Para ello, antes y después del tratamiento, tomaron muestras subgingivales de 44 sitios de pacientes diagnosticados con periodontitis crónica. En el resultado registrado antes de realizar el tratamiento presentaron: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*, en un 66%, 55% y 41%, respectivamente, mientras que después del tratamiento periodontal, los periodontopatógenos mencionados anteriormente, disminuyeron significativamente ⁽¹¹⁾.

Nayak A. et al. ⁽²⁵⁾, realizaron un estudio en la India acerca de la detección de organismos del complejo rojo por PCR-multiplex, a 170 pacientes diagnosticados con periodontitis crónica con profundidad de bolsa ≥ 5 mm, de los cuales 106 corresponden a muestras positivas del complejo rojo. El estudio revela la presencia de *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia* en un 67,84%, 43,48% y 66,09%, respectivamente ⁽²⁵⁾.

Iniesta M. et al. ⁽³¹⁾, realizaron un análisis de los factores de virulencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia*, ya que son los que están principalmente asociados a la periodontitis, llegando a la conclusión de que por sus factores de virulencia son capaces de eludir al huésped, colonizar los surcos gingivales y causar destrucción de los tejidos periodontales ⁽³¹⁾.

Nayak A. et al. ⁽³²⁾, publicaron un artículo sobre la detección por PCR de *Tannerella forsythia* en pacientes con periodontitis crónica, mediante dos técnicas de muestreo: bolsillo y de cureta. Para este estudio incluyeron a 27 pacientes adultos con presencia de la patología mencionada anteriormente. El estudio muestra una ocurrencia de un 62,96% de *Tannerella forsythia* ⁽³²⁾ mediante ambas técnicas. La técnica de muestreo de bolsillo identificó *Tannerella forsythia* en un 33,33% mientras que la técnica de cureta un 37,03%, y la coincidencia exacta entre estas dos técnicas fue de un 7,40% ⁽³²⁾.

5.-HIPÓTESIS

El presente estudio no precisó hipótesis por ser de tipo descriptivo.

CAPÍTULO II

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1.- MARCO METODOLÓGICO

- **Enfoque:** Cuantitativo
- **Diseño de investigación:** Descriptivo ⁽³⁶⁾
- **Nivel de investigación:** Exploratorio

Tipo de Investigación:

- **Por el ámbito:** De campo y laboratorio
- **Por la técnica:** Observacional
- **Por la temporalidad:** Transversal actual

2.- POBLACIÓN Y MUESTRA

La población de estudio fue no probabilística, puesto que no es representativa de todo el universo de dicha población. Se tuvo acceso a los pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta atendidos en la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca en el período marzo-agosto 2019, sin embargo, no fueron seleccionados por un criterio estadístico debido a que no hay acceso a una lista completa de los individuos que conforman la población. Esta población fue seleccionada según criterios previamente establecidos por el investigador (la presencia de la patología).

2.1.- Criterios de selección: Para la formalización de la población se tuvo en cuenta los siguientes criterios de selección:

2.1.a.- Criterios de inclusión: Se incluyeron en el presente estudio a los pacientes que acudieron a la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca en el período marzo–agosto 2019, con presencia de periodontitis de progresión lenta con profundidad al sondaje $\geq 5\text{mm}$, y a los pacientes que aceptaron participar en el estudio y firmaron el consentimiento informado.

2.1.b.- Criterios de exclusión: Se excluyeron a los pacientes que padecían otro tipo de enfermedad periodontal, aquellas personas que no aceptaron participar en el estudio, pacientes con enfermedades sistémicas, discapacitados, fumadores de más de 10 cigarrillos al día, pacientes que hayan recibido terapia periodontal previa y pacientes que hayan recibido antibioticoterapia durante los últimos seis meses.

2.2.- Tamaño de la muestra ⁽³⁷⁾: La muestra total fue de 41 pacientes que cumplieron con los criterios de presencia de la patología (Periodontitis de Progresión Lenta), seleccionadas en base a lo expuesto en el muestreo no probabilístico por cuotas, pues se realiza sobre la base de un buen conocimiento de los estratos de la población y selecciona a los individuos más representativos.

3.- OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES ⁽³⁸⁾.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERATIVA	TIPO ESTADÍSTICO	ESCALA	DATO
Presencia de <i>Tannerella forsythia</i> por Biología Molecular	Presencia del periodontopatógeno (<i>Tannerella forsythia</i>) en pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta de una población determinada.	Se determina mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).	Cualitativa	Nominal	-Presencia -Ausencia
Sexo	Características genotípicas y fenotípicas de la persona.	Características externas que diferencian al varón de la mujer.	Cualitativo	Nominal	-Masculino -Femenino

4.- INSTRUMENTOS, MATERIALES Y RECURSOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.

4.1.- Instrumentos documentales: Se utilizó dos fichas de recolección de datos: una ficha periodontal, que constó de los siguientes parámetros: código de la muestra, datos generales del paciente (nombre, edad, sexo), periodontograma de la pieza dental tomada como muestra con bolsa periodontal $\geq 5\text{mm}$, observaciones clínicas adicionales; y otra ficha de observación de Biología Molecular que constó del protocolo de trabajo y del registro de resultados en esta área. Posteriormente, se registró los datos obtenidos en el programa de libre acceso de Excel.

Se anexa al final las fichas utilizadas para la recolección de datos y el consentimiento informado validado por el Comité de Bioética de la Universidad Católica de Cuenca.

4.2.- Instrumentos mecánicos: se utilizó el laboratorio de Genética y de Biología Molecular de la Universidad Católica de Cuenca, para realizar la detección por PCR de las muestras tomadas, y para el registro de datos obtenidos se utilizó una computadora de escritorio.

4.3.- Materiales

Para el presente estudio utilizamos: materiales de escritorio, copias de las fichas validadas, set de diagnóstico bucal, uniforme completo, guantes, mascarilla, gorro, sondas periodontales Carolina del Norte, curetas estériles, conos de papel estériles, torundas de algodón, gasas estériles.

En el laboratorio de Biología Molecular utilizamos: tubos de ensayo, tubos eppendorf 1 ml, tubos PCR, pipetas de 1-10, 20-200, 100-1000, puntas de 10, 100 y 1000, agitador Vórtex mixer, Genomic DNA Purification Kit, termociclador, cámara de electroforesis horizontal, centrífuga, termobloque, Tioglicolato, primers, agua ultrapura, Master Mix, TAE, gel de Agarosa, Ladder y Sybr safe.

4.4.- Recursos.

Para llevar a cabo el estudio se necesitaron recursos institucionales (UCACUE), recursos humanos (Examinadores y Tutores) y recursos financieros (autofinanciados).

5.-PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE DATOS.

5.1.-Ubicación espacial.

La Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca, está ubicado entre la Avenida de las Américas y Humboldt, en los exteriores de la Carrera de Odontología, en la ciudad de Cuenca, provincia del Azuay, República del Ecuador.

5.2.-Ubicación temporal.

La investigación se ejecutó entre los meses de marzo- agosto 2019, durante este período se realizó: la estructuración del presente estudio, la recolección de muestras tomadas de pacientes con periodontitis de progresión lenta que acudieron a la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca y la detección de *Tannerella forsythia* por PCR.

5.3.- Procedimientos de la toma de datos.

Para el registro de los datos obtenidos se utilizaron las fichas de recolección de datos periodontal y de biología molecular, las mismas que fueron ingresadas al programa de libre acceso de Excel.

El estudio de detección de *Tannerella forsythia*, buscó describir cualitativamente su presencia en pacientes con periodontitis de progresión lenta.

5.3.1. Método de toma de muestra microbiológica utilizado por los examinadores

Los examinadores clínicos fuimos calibrados por especialistas en periodoncia de la Universidad Católica de Cuenca, mediante prácticas previas de toma de muestra. Una vez calibrados los examinadores tuvimos que seguir las siguientes recomendaciones:

1. Asegurarnos que el paciente cumpla con los parámetros de diagnóstico de una periodontitis de progresión lenta (bolsa periodontal $\geq 5\text{mm}$), de acuerdo a la nueva clasificación periodontal 2018.
2. Utilizar los implementos de bioseguridad.
3. Utilizar la Sonda Carolina del Norte
4. Esterilizar el instrumental utilizado y materiales como los conos de papel.
5. Tomar correctamente la muestra para evitar su contaminación.
6. Al tomar la muestra, evitar doblar la punta de los conos de papel.

7. Seguir adecuadamente el protocolo de manejo de las muestras.

Para el procedimiento de la toma de muestras, se aisló previamente el sector con rollos de algodón. Las muestras se recolectaron de la bolsa periodontal de pacientes con periodontitis de progresión lenta, con profundidades de sondaje iguales o superiores a 5mm. De cada paciente se tomó la muestra del sitio más profundo. Para la obtención de la muestra utilizamos conos de papel estériles número 15 en dientes anteriores y número 20 en dientes posteriores, durante 20 segundos. Inmediatamente, cada cono de papel se introdujo en el medio de transporte con 3ml de caldo Tioglicolato. Las muestras son transportadas de inmediato al laboratorio de Genética y Biología Molecular de la Universidad Católica de Cuenca para su posterior procesamiento.

5.3.2.- Detección de *Tannerella forsythia* por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Para realizar la identificación por PCR se realizó la extracción de ADN, a partir de las muestras conservadas en el caldo Tioglicolato a 37°C, durante 15 días. Para la liberación del material genético, se procedió de la siguiente manera:

- a) Se transfirió 1ml de la suspensión bacteriana a un tubo eppendorf, se centrifugó en una microcentrífuga digital Hettich a 8000 rpm durante 3 minutos, y se retiró el sobrenadante.
- b) Sobre el pellet del fondo del tubo, se colocó 50µl de la solución de lisis, formada por SDS al 1% en Na(OH) 0,25N y se llevó a 100°C por 10 minutos.
- c) Se agregó 450 µl de agua ultrapura, se centrifugó durante 15 segundos a 8000 rpm y finalmente, se lleva a congelación (-20°C) hasta el momento de realizar la PCR.

Posteriormente, se amplificó un fragmento del gen ADNr 16S utilizando las secuencias de los Oligonucleótidos (Cuadro 1).

Bacteria	Secuencia (5' – 3')	Tamaño	Referencia
<i>Tannerella forsythia</i>	F: GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA	641pb	Ashimoto 1996
	R: TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T		

Cuadro N° 1. Primers de *Tannerella forsythia* y su amplificación.

En un tubo de PCR de 0,2 ml de volumen se preparó la siguiente mezcla de reacción: 10µl de Master Mix (Gotaq Green 2X de Promega), 1,5 µl de *primer forward*, 1,5 µl de *primer reverse*, 5 µl de agua ultrapura y 2 µl de ADN total. El volumen final de la reacción de PCR fue de 20 µl. Posteriormente, se homogenizó las muestras mediante Vortex mixer.

La reacción se efectúa en un termociclador Agilent con el protocolo:

1. Desnaturalización inicial a 95°C x 2 min
2. 36 ciclos de:
 - a. Desnaturalización a 95°C x 30 seg
 - b. Hibridación a 60°C x 1 min
 - c. Elongación a 72°C x 1 min
3. Elongación final a 72°C x 2 min

Finalmente, la electroforesis se realizó en 50 ml de gel de agarosa al 2% con 3 µl de Sybr Safe, durante 1 hora, con el programa 60V, 90mA, 60W, y su visualización en un transiluminador UV.

6.- PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE DATOS ⁽³⁹⁾.

Fue aplicada la estadística descriptiva para presentar los datos obtenidos de las unidades de estudio sobre la presencia de *Tannerella forsythia* en pacientes con periodontitis de progresión lenta y su distribución según el sexo, ambas asociadas a la variable cualitativa; en la cual consiste en presentar los datos mediante tablas estadísticas.

Finalmente, se elaboraron: una tabla para la distribución de la muestra y dos tablas descriptivas con las variables de presencia – ausencia por PCR y distribución de acuerdo al sexo. De esta forma se podrá mostrar con claridad la presencia de la bacteria y su distribución según el sexo.

7.- ASPECTOS BIOÉTICOS

El presente estudio no implicó conflictos bioéticos, debido a que previo a la toma de muestra se ejecutó la firma del consentimiento informado a todos los pacientes que participaron en el estudio, para lo cual, se les informó por escrito acerca de los objetivos, metodología del estudio y el compromiso de confidencialidad de sus datos por parte del investigador. Además, se les manifestó el beneficio que podría traer a la comunidad en lo que respecta a métodos terapéuticos específicos con la determinación de las bacterias como agentes etiológicos de la periodontitis de progresión lenta.

La misma fue aprobada por el Comité de Bioética de la Universidad Católica de Cuenca, bajo el código: MO61TANOD07.

CAPÍTULO III

RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

1. RESULTADOS:

Tabla N°1. Distribución de la muestra, según edad y sexo.

EDAD	SEXO		TOTAL
	Masculino n(%)	Femenino n(%)	
20-29	1(2,4%)	0%	1(2,4)
30-39	12(29,3%)	9(22%)	21(51,3%)
40-49	5(12,2%)	6(14,6%)	11(26,8)
50-59	4(9,8%)	1(2,4%)	5(12,2%)
≥60	3(7,3)	0%	3(7,3)
TOTAL	25(61%)	16(39%)	41(100%)

Interpretación: En un total de 41 pacientes diagnosticados con periodontitis de progresión lenta el 61% pertenece al sexo masculino y el 39% al sexo femenino, la población estudiada en su mayoría fue de 30- 39 años.

Tabla N°2. Presencia de *Tannerella forsythia*, mediante PCR.

	n	%
Presencia	4	9,8
Ausencia	37	90,2
TOTAL	41	100

Interpretación: La técnica de PCR permitió detectar *Tannerella forsythia* en pacientes con periodontitis de progresión lenta. A pesar de ser un microorganismo frecuente en pacientes que padecen la patología mencionada anteriormente, en la población estudiada la presencia de *Tannerella forsythia* es baja.

Tabla N°3. Presencia de *Tannerella forsythia*, según el sexo.

	Masculino		Femenino	
	n	%	n	%
Presencia	2	8	2	12,5
Ausencia	23	92	14	87,5
TOTAL	25	100	16	100

Interpretación: *Tannerella forsythia* se presenta en un mayor porcentaje en el sexo femenino.

2. DISCUSIÓN:

La etiología de la periodontitis de progresión lenta es multifactorial, sin embargo, la microbiota subgingival desempeña un papel relevante en el desarrollo de esta patología. Por ello, el presente estudio evaluó la detección de *Tannerella forsythia* en 41 pacientes diagnosticados con periodontitis de progresión lenta, atendidos en la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca, Ecuador. La detección de este microorganismo se realizó mediante la técnica de PCR debido a que el periodontopatógeno estudiado es difícil de cultivar por sus requerimientos.

La presente investigación permitió detectar *Tannerella forsythia* en pacientes con periodontitis de progresión lenta, mediante la técnica de PCR, lo cual demuestra que el protocolo seguido es útil para la detección de esta bacteria. Además, mostró una baja presencia de *Tannerella forsythia*, con un mayor porcentaje en mujeres.

El presente estudio es el primero realizado a nivel nacional, no obstante, existen diversas investigaciones internacionales que utilizan la técnica de PCR para detectar bacterias relacionadas a la enfermedad periodontal, en los cuales demuestran que *Tannerella forsythia* es un periodontopatógeno fuertemente asociado con la periodontitis de progresión lenta. Así, como los estudios realizados en Chile ⁽¹⁾, Brasil ⁽³⁾, Argentina ⁽¹¹⁾, Colombia ⁽⁷⁾, India ⁽²⁵⁾ y Uruguay ⁽⁸⁾ encontraron un 30%, 41,4%, 55%, 62,5%, 67,84% y 92% de *Tannerella forsythia*, respectivamente, lo cual difiere con nuestros resultados ya que la presencia del periodontopatógeno estudiado es significativamente menor, con un 9,8%. Entonces, al comparar nuestra investigación con estudios realizados en otros países, evidenciamos que la frecuencia del periodontopatógeno estudiado varía en cada país, lo cual denota que la presencia de *Tannerella forsythia* difiere en relación a las ubicaciones geográficas y características genéticas, así como entre los diferentes grupos raciales y étnicos.

Papone V. et al ⁽⁸⁾, refieren que la presencia de *T. forsythia* según el sexo fue significativamente mayor en hombres, lo cual difiere con nuestro estudio, debido a que presentó un mayor porcentaje en mujeres. Sin embargo, Mujica C. et al. ⁽¹⁾, coinciden con nuestros resultados, puesto que *Tannerella forsythia* fue más frecuente en mujeres. En general, los estudios analizados, no revelan una predilección por un sexo en específico, por ende, no se considera al sexo como factor determinante de la periodontitis de progresión lenta.

Además, pese a que nuestro resultado sugiere una mayor presencia de este periodontopatógeno en el sexo femenino, la cantidad limitada de individuos que participaron en el estudio, no es suficiente para generalizar ese resultado, por lo cual se recomienda realizar futuras investigaciones.

Entre las limitaciones del presente estudio es importante destacar que, al utilizar un método molecular sensible, pensamos que varios factores pueden influir en los resultados, debido a que el método de extracción de ADN no es específico para *Tannerella forsythia*. Sin embargo, varios estudios realizados anteriormente, sugieren que se puede emplear. Por ello, los resultados obtenidos demuestran que es un método válido. Además, es fundamental señalar que la nitidez de la visualización del periodontopatógeno depende de la carga bacteriana de la muestra.

En conclusión, la técnica de PCR es útil para la detección de *Tannerella forsythia*, además, este periodontopatógeno tiene asociación con la periodontitis de progresión lenta, no obstante, en la población estudiada la presencia es significativamente menor en comparación con los estudios realizados en otros países.

3. CONCLUSIONES:

Primera. – La técnica de PCR permitió detectar *Tannerella forsythia* en bolsas periodontales de pacientes con periodontitis de progresión lenta en un 9,8%.

Segunda. – *Tannerella forsythia* muestra una mayor presencia en el sexo femenino con un 12,5%, mientras que en el sexo masculino se presentó en un 8%.

III.- BIBLIOGRAFÍA.

1. Mujica C, Castillo M, Daille L, Fuentevilla I & Bittner M. Co-detección de Patógenos Periodontales en Pacientes Chilenos con Periodontitis Crónica. Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral [Internet]. 2010 [citado 12 Marzo 2019]; 3(3): 118-122. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-01072010000300003&lng=es
2. Hurtado A, Bojórquez Y, Montaña M & López J. Bacterias asociadas a enfermedades periodontales. ORAL [Internet]. 2016 [citado 12 Marzo 2019]; 17(54): 1374-1378. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/oral/ora-2016/ora1654f.pdf>
3. Farias B et al. Occurrence of periodontal pathogens among patients with chronic periodontitis. Brazilian Journal of Microbiology [Internet]. 2012 [citado 12 Marzo 2019]; 43(3): 909-916. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3768898/?fbclid=IwAR0XABmv7gSzmkw3Lh_JcNaOu8g3XLc7FbjfdYwvW2MuuY46bahNZ9Xpa8o
4. Sánchez J, García G & Spin J. Nueva Clasificación sobre las Enfermedades y Condiciones Periodontales y Peri-implantares: Una Breve Reseña. Odontología [Internet]. 2018 [citado 12 Marzo 2019]; 20 (2): 68-89. Disponible en: http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/odontologia/article/view/1475/1430?fbclid=IwAR0mkVh--V_y97xXuxyyugYixMtAlrl0K_nghbuC5RZEYYht6_R7njMyQPE
5. Tomás I et al. Quantification by qPCR of Pathobionts in Chronic Periodontitis: Development of Predictive Models of Disease Severity at Site-Specific Level. Front. Microbiol [Internet]. 2017 [citado 12 Marzo 2019]; 8: 1-16. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.01443/full>
6. Carvajal P. Enfermedades periodontales como un problema de salud pública: el desafío del nivel primario de atención en salud. Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral [Internet]. 2016 [citado 12 Marzo 2019]; 9(2): 177-183. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-01072016000200016&lng=es
7. Ardila C, Botero L & Guzmán I. Comparación de las características sociodemográficas, clínicas y microbiológicas de pacientes con periodontitis agresiva y crónica. Rev. Arch Med Camagüey [Internet]. 2014 [citado 12 Marzo 2019]; 18(5): 532-544. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medicocamaquey/amc-2014/amc145i.pdf>

8. Papone V et al. Detección y prevalencia de patógenos periodontales de una población con periodontitis crónica en Uruguay mediante metodología convencional y metagenómica. *Odontoestomatología* [Internet]. 2015 [citado 12 Marzo 2019]; 17(25): 23-32. Disponible en: <http://www.scielo.edu.uy/pdf/ode/v17n25/v17n25a04.pdf>
9. Cosac C, Ionica C, Ratiu C & Savu L. Relative quantification of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* high-risk bacterial species in Romanian patients evaluated for periodontal disease. [Internet]. 2017 [citado 12 Marzo 2019]: 1-11. Disponible en: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/184770v1.full>
10. Lamont R, Hajshengallis & Jenkinson. *Microbiología en inmunología oral*. 1era ed. Ed. México: El Manual Moderno; 2015.
11. Bazzano G, Parodi R, Tabares S & Sembaj A. Evaluación de la terapia mecánica periodontal en bolsas profundas: Respuesta clínica y bacteriológica. *Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral* [Internet]. 2012 [citado 21 Marzo 2019]; 5(3): 122-126. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-01072012000300004>
12. Eley B, Soory M & Manson J. *Periodoncia*. 6ta ed. España: Elsevier; 2010.
13. Chen W et al. Composition Analysis and Feature Selection of the Oral Microbiota Associated with Periodontal Disease. *BioMed* [Internet]. 2018 [citado 21 Marzo 2019]: 1-14. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2018/3130607/>
14. Pérez L et al. Prevalencia de enfermedad periodontal y factores de riesgo asociados. Policlínico Pedro Borrás, Pinar del Río. *Rev Ciencias Médicas* [Internet]. 2011 [citado 21 Marzo 2019] ; 15(2): 53-64. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942011000200006&lng=es.
15. Armitage G & Cullinan M. Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontology 2000* [Internet]. 2010 [citado 21 Marzo 2019]; 53: 12–27. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20403102>
16. Herrerra D, Figuero E, Shapira L, Jin L & Sanz M. La nueva clasificación de las enfermedades periodontales y periimplantarias. *Revista Científica de la Sociedad Española* [Internet] 2018 [citado 25 Marzo 2019]; 1(11): 94-110 Disponible en: http://www.sepa.es/web_update/wp-content/uploads/2018/10/PC11_articulo.pdf
17. Zerón A. La nueva clasificación de enfermedades periodontales. *Revista ADM* [Internet]. 2018 [citado 25 Marzo 2019]; 75 (3): 122-124. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od->

[2018/od183a.pdf?fbclid=IwAR3l0ON8lLolzhGH0zNPpmGUarE8kHmXA3OylXwsGSKeoFB4E2bf7-bCeC8](https://doi.org/10.1002/JPER.18-0006)

18. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol* [Internet]. 2018 [citado 25 marzo 2019]; 89(1):S159– S172. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/JPER.18-0006>
19. Caton J. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. [Internet]. 2018 [citado 25 marzo 2019]; 45(20): 1-8. Disponible en: <https://www.fippdentalearning.org/fiip/wp-content/uploads/2018/06/New-Classification-for-Periodontal-Diseases-2017.pdf>
20. Newman M, Takei H, Klokkevold P & Carranza F. *Periodontología Clínica de Carranza*. 11va ed: Amolca; 2014.
21. Escudero N, Perea M & Bascones A. Revisión de la periodontitis crónica: Evolución y su aplicación clínica. *Av Periodon Implantol* [Internet]. 2008 [citado 5 abril 2019]; 20 (1): 27-37. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/peri/v20n1/original2.pdf>
22. Cruz I, Rubio G & Torres M. Enfermedad periodontal inmunoinflamatoria crónica. *Municipio Fomento*. 2010. *Gac Méd Espirit* [Internet]. 2013 [citado 5 abril 2019]; 15(1): 30-36. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1608-89212013000100005&lng=es
23. Popova C, Dosseva V & Panov B. Microbiology of Periodontal Diseases. A Review, *Biotechnology & Biotechnological Equipment* [Internet]. 2013 [citado 5 abril 2019]; 27:3, 3754-3759. Disponible en: <https://doi.org/10.5504/BBEQ.2013.0027>
24. Holt S & Ebersole J. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the _red complex_, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontology 2000* [Internet]. 2005 [citado 5 abril 2019]; 38: 72–122. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15853938>
25. Nayak A et al. Detection of red complex organisms in chronic periodontitis by multiplex polymerase chain reaction. *Journal of Advanced Clinical & Research Insights* [Internet]. 2018 [citado 9 abril 2019]; 5 (5): 139–144. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/330779957_Detection_of_red_complex_organisms_in_chronic_periodontitis_by_multiplex_polymerase_chain_reaction
26. Britos M, Sin C, Ortega S & Vasek O. Diseño y estandarización de la técnica de PCR para *Porphyromonas gingivalis*. *Revista Facultad De Odontología* [Internet]. 2017

- [citado 9 abril 2019]; 10(1): 25-31. Disponible en: <http://revistas.unne.edu.ar/index.php/rfo/article/view/2931>
27. Sharma A. Virulence mechanisms of *Tannerella forsythia*. *Periodontol 2000* [Internet]. 2010 [citado 21 marzo 2019]; 54(1): 106–116. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2934765/#!po=18.0556>
28. Testa M. Desarrollo de un caldo de Cultivo para *Tannerella forsythia*. *Revista FOUNT* [Internet]. 2013 [citado 9 abril 2019]; 30: 18-21. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/307855304_Development_of_a_culture_medium_for_Tannerella_forsythia
29. Farías F. Enfermedad periodontal y microorganismos periodontopatógenos. *ODOUS Científica* [Internet]. 2013 [citado 9 abril 2019]; 1 (1): 1-22. Disponible en: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/odontologia/revista/v4n1/4-1-2.pdf>
30. Valero P. *Bacterias de interés odontológico*. 1ra ed. España: Editum; 2015. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=uhQ0CwAAQBAJ&pg=PA37&lpg=PA37&dq=tannerella+forsythia+asacarolitica&source=bl&ots=bo7b8zgqrO&sig=ACfU3U00En391kIU7_LHcXNvXa57dfosw&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwiY-OGqgM_kAhUNm1kKHew7CIEQ6AEwD3oECAkQAQ#v=onepage&q&f=false
31. Iniesta M, Herrera D, Serrano J & Sanz M. Análisis de los factores de virulencia de los patógenos de asociación fuerte con la periodontitis: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia*. *Periodoncia y Osteointegración* [Internet]. 2008 [citado 10 abril 2019]; 18 (2): 109-115. Disponible en: http://www.sepa.es/images/stories/SEPA/REVISTA_PO/articulos.pdf/18-2_05.pdf
32. Nayak A, Bankur P, Nayak R & Kudalkar. Detection of *Tannerella Forsythia* by Pocket-out Method in Chronic Periodontitis Patients. *Journal of Dentistry* [Internet]. 2016 [citado 10 abril 2019]; 7(1): 1-6. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/304451371_Detection_of_Tannerella_Forsythia_by_Pocket-out_Method_in_Chronic_Periodontitis_Patients
33. Romero Y, Díaz A, Arroyo B & Villalba V. Métodos de identificación bacteriana y sus aplicaciones en la investigación odontológica. *Revista De La Facultad De Ciencias De La Salud DUAZARY* [Internet]. 2010 [citado 10 abril 2019]; 7 (2): 247-256.

Disponible en:
http://www.academia.edu/8981131/M%C3%A9todos_de_identificaci%C3%B3n_bacteriana_y_sus_aplicaciones_en_la_investigaci%C3%B3n_odontol%C3%B3gica

34. Ashimoto A, Chen C, Bakker I & Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. Oral Microbiol Immunol [Internet] 1996 [citado 10 abril 2019]: 11: 266-273. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1399-302X.1996.tb00180.x>
35. Avila M. Detecção por PCR de quatro periodontopatógenos de pacientes com doença periodontal e de indivíduos saudáveis. Braz. J. Microbiol [Internet]. 2003 [citado 10 abril 2019]; 34(1): 81-84. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822003000100017&lng=en.
36. Villavicencio E, et. al., Diseños de estudios clínicos en odontología. Revista OACTIVA UC Cuenca [Internet]. 2016 [citado 10 abril 2019]; 1(2): 81-84. Disponible en: <http://oactiva.ucacue.edu.ec/index.php/oactiva/article/view/163/284>
37. Torres M, Paz K, Salazar F. Tamaño de una muestra para una investigación de mercado. Universidad Rafael Landívar [Internet]. [Citado 11 octubre 2019]; 2: 1-13. Disponible en: http://www.fgsalazar.net/LANDIVAR/ING-PRIMERO/boletin02/URL_02_BAS02.pdf
38. Villavicencio E, Torracchi E, Pariona M & Alvear M. ¿Cómo plantear las variables de una investigación? Operalización de las variables, Revista OACTIVA UC Cuenca [Internet]. 2019 [citado 10 abril 2019]; 4 (1): 9-14. Disponible en: <http://oactiva.ucacue.edu.ec/index.php/oactiva/article/view/289/500>
39. Torracchi E, Córdova A, Chiriboga G & Villavicencio E. Estrategia de análisis de datos (Parte 1): Creación de bases de datos para investigaciones ciencias de la salud, Revista OACTIVA UC Cuenca [Internet]. 2019 [citado 10 abril 2019]; 4(2): 13-20. Disponible en: <http://oactiva.ucacue.edu.ec/index.php/oactiva/article/view/347/524>

ANEXOS.

Anexo 1.**Aprobación del Comité Institucional de Bioética de la Universidad Católica de Cuenca de la Carrera de Medicina.**

**UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE CUENCA**
COMUNIDAD EDUCATIVA AL SERVICIO DEL PUEBLO

Cuenca, 20/5/2019

El Comité Institucional de Bioética en Investigación en Seres Humanos de la Universidad Católica de Cuenca, Carrera de Medicina.

CERTIFICA

Que ha conocido, analizado y aprobado el **proyecto de investigación** titulado
TANNERELLA FORSYTHIA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD PERIODONTAL
DE PROGRESIÓN LENTA QUE ACUDEN A CLÍNICA ODONTOLÓGICA DE LA
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA, PERÍODO MARZO - AGOSTO 2019.

Trabajo de titulación realizado por ERIKA FABIOLA MOSCOSO ARPI

Código: MO61TANOD07




A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Carlos Flores Montesinos'.

DR. CARLOS FLORES MONTESINOS

RESPONSABLE COMITÉ DE BIOÉTICA

Anexo 2.

Solicitud de ingreso a la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca

 **UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA**
COMUNIDAD EDUCATIVA AL SERVICIO DEL PUEBLO

Cuenca, 06 de mayo de 2019

Od. Esp. Erica Quito V.

COORDINADORA DE PRÁCTICAS PREPROFESIONALES DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

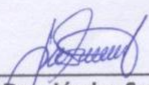
De nuestras consideraciones

Los estudiantes de décimo ciclo **Kamila Calderón, Pedro Cisneros, Fabiola Moscoso, John Orellana y Stephanie Palacios**, solicitamos de la manera más cordial nos autorice el acceso a la clínica general para la recolección de datos y toma de muestras a los pacientes de seguimiento periodontal de los estudiantes de séptimos y novenos ciclos, por motivo de la realización de nuestros trabajos de titulación, los mismos que se encuentran dentro de la investigación: **"Bacterias y Levaduras patógenas en pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta que acuden a la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca, período Marzo – Julio 2019."**



Por su atención a la presente, anticipamos nuestros agradecimientos.

Atentamente,

Kamila Calderón _____
Pedro Cisneros _____
Fabiola Moscoso _____
John Orellana _____
Stephanie Palacios _____



Mgt. Dra. Jéssica Sarmiento O.
DOCENTE TUTORA DEL PROYECTO DE TITULACIÓN

Anexo 3.

Solicitud de validación de instrumento de recolección de datos.



UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE CUENCA
COMUNIDAD EDUCATIVA AL SERVICIO DEL PUEBLO

Cuenca, 15 de Mayo de 2019

Mgt. Dra. Jéssica Sarmiento O.

DOCENTE TUTORA DEL PROYECTO DE TITULACIÓN

De nuestra consideración

Reciba un cordial saludo y comunicarle que en respuesta a su petición a la validación del instrumento de recolección de datos, para el proyecto de investigación: **BACTERIAS Y LEVADURAS PATÓGENAS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD PERIODONTAL DE PROGRESIÓN LENTA QUE ACUDEN A LA CLÍNICA ODONTOLÓGICA DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA, PERIODO MARZO-AGOSTO 2019**; se aprueba el instrumento para el proyecto antes mencionado, ya que fue avalada por los docentes pertinentes en el Área de Periodoncia.

Sin otro particular nos suscribimos de Usted.

Od. Esp. María del Cisne Centeno
DOCENTE TITULAR

Od. Esp. Andrea Paola Pérez Mora
DOCENTE TITULAR

Od. Andrea Paola Pérez M.
ESP. EN PERIODONCIA
Od. 1007-11-109191
Esp. CL-14-9814

Anexo 4.

Certificado de permiso de funcionamiento del laboratorio químico microbiológico y bromatológico.

	AGENCIA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DE LOS SERVICIOS DE SALUD Y MEDICINA PREPAGADA		MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA		
P.F. No. ACCESS-2018-Z06-0056547					
CERTIFICADO DE PERMISO DE FUNCIONAMIENTO					
SERVICIOS DE SALUD					
CLASE DE RIESGO : A					
De conformidad con lo establecido en la Ley Orgánica de Salud, se confiere el Permiso de Funcionamiento a:					
Razon social:	UNIVERSIDAD CATOLICA DE CUENCA	Nombre comercial:	LABORATORIO QUIMICO MICROBIOLOGICO Y BROMATOLOGICO		
Propietario o representante legal:	POZO CABRERA ENRIQUE EUGENIO	No. establecimiento:	018		
No. RUC:	0190032981001	Unicodigo:	28216		
Entidad:	PRIVADO	Tipo:	ESTABLECIMIENTOS DE SERVICIOS DE SALUD PÚBLICOS Y PRIVADOS / SERVICIOS DE APOYO / LABORATORIO DE ANALISIS CLINICO / Laboratorio de Análisis Clínico de mediana complejidad	Código:	5.2.2
Responsable técnico:	PARDO VICUÑA MARIA DE LOURDES				
Ubicación:	Provincia: AZUAY	Cantón: CUENCA	Parroquia: CUENCA		
	Dirección: AV. AMERICAS S/N y HUMBOLT		Barrio: BELLAVISTA		
Fecha de emisión:	2018-11-18	Fecha de vencimiento:	2019-11-18		
Aprobado por:	ALARCON CALLE JENNIFER ALEXANDRA DELEGADO/A PROVINCIAL DE LA ACCESS				
			<small>Verifique la validez del certificado</small> 		

Anexo 6.

Instrumento de recolección de datos (Ficha de trabajo en el laboratorio de Biología molecular) – Hoja 2.



INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS PARA EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE TITULADO: "Bacterias y Levaduras patógenas en pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta que acuden a la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca, período Marzo – Agosto 2019".

FICHA DE TRABAJO EN EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR																									
Código de la muestra:		Procedencia: Bolsas Periodontales																							
Bacteria a identificar:	<input type="checkbox"/> Porphyromona gingivalis <input type="checkbox"/> Tannerella Forsythia <input type="checkbox"/> Aggregatibacter actinomycetemcomitans <input type="checkbox"/>																								
PROCEDIMIENTO Y RESULTADOS																									
Fecha:	Extracción de ADN (SDS-Lisis alcalina-Temperatura)	Cuantificación de ADN _____																							
Fecha:	PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa)	Gen a identificar _____																							
		Primers F: _____ R: _____																							
		<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">Cálculos</th> </tr> <tr> <th></th> <th>Muestras</th> <th>Total</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MM _____ ul x _____</td> <td>=</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Primer F _____ ul x _____</td> <td>=</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Primer R _____ ul x _____</td> <td>=</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>ADN _____ ul x _____</td> <td>=</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Agua _____ ul x _____</td> <td>=</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Total _____ ul x _____</td> <td>=</td> <td>_____</td> </tr> </tbody> </table>	Cálculos				Muestras	Total	MM _____ ul x _____	=	_____	Primer F _____ ul x _____	=	_____	Primer R _____ ul x _____	=	_____	ADN _____ ul x _____	=	_____	Agua _____ ul x _____	=	_____	Total _____ ul x _____	=
Cálculos																									
	Muestras	Total																							
MM _____ ul x _____	=	_____																							
Primer F _____ ul x _____	=	_____																							
Primer R _____ ul x _____	=	_____																							
ADN _____ ul x _____	=	_____																							
Agua _____ ul x _____	=	_____																							
Total _____ ul x _____	=	_____																							
	Protocolo Usado 1.- Desnaturalización inicial: _____ min x _____ °C 2.- _____ ciclos de: Desnaturalización _____ min x _____ °C Alineamiento _____ min x _____ °C Elongación _____ min x _____ °C 3.- Elongación final: _____ min x _____ °C																								
Fecha:	Electroforesis	Protocolo: _____ Volt _____ mA _____ waH _____ min																							

MM: Master Mix
 SDS: Sodio Dodecilsulfato
 F: Forward
 R: Reverse

Anexo 7.

Instrumento de recolección de datos (Ficha de resultados en biología molecular) – Hoja 3.



INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS PARA EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE TITULADO: "Bacterias y Levaduras patógenas en pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta que acuden a la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca, período Marzo – Agosto 2019".

RESULTADO DE LA ELECTROFORESIS HORIZONTAL														
Ladder	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ladder	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ladder	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ladder	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

_____ : Colocar el código de la muestra

: Colocar positivo o negativo

Anexo 8.

Consentimiento Informado – Hoja 1.



UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE CUENCA
COMUNIDAD EDUCATIVA AL SERVICIO DEL PUEBLO

Código

COMITÉ INSTITUCIONAL DE BIOÉTICA EN INVESTIGACIÓN DE SERES VIVOS DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Título del proyecto de investigación: Bacterias y Levaduras patógenas en pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta que acuden a la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca, período Marzo – Agosto 2019.

Institución a la que pertenece el investigador: Universidad Católica de Cuenca.

Nombre del investigador responsable: Dra. Mgt. Jessica María Sarmiento Ordoñez.

Datos de localización del investigador responsable: jsarmiento@ucacue.edu.ec TELÉFONO CELULAR: 0992096954

Nombre del Co- investigador responsable: Dra. Paola Patricia Orellana Bravo

Datos de localización del co-investigador responsable: porellana@ucacue.edu.ec TELÉFONO CELULAR: 0958895616

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

INTRODUCCIÓN

Usted puede hacer todas las preguntas que quiera para entender claramente su participación y despejar sus dudas. Para participar puede tomarse el tiempo que necesite para consultar con su familia y/o amigos, o profesionales del área de conocimiento requerido que usted crea convenientes para decidir si desea participar o no.

Usted ha sido invitado a participar en una investigación sobre Bacterias y Levaduras patógenas en pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta, va a ser estudiada en Microbiología Clínica debido a su alta incidencia en problemas de salud periodontal, es por esto que se presenta la necesidad de realizar este estudio, ya que se podría aportar nueva información al medio científico, y de esta manera contribuir en la generación de métodos de control y tratamiento enfocados a esta enfermedad y a esta bacteria específicamente.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

Determinar la ocurrencia de Bacterias y Levaduras patógenas en pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta que acuden a la clínica odontológica de la Universidad Católica de Cuenca periodo Marzo-Agosto 2019.

DESCRIPCIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS

- 1) Creación de una colección de 30 a 50 cepas clínicas de Bacterias y Levaduras patógenas, aisladas a partir de pacientes con enfermedad periodontal de progresión lenta en la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Cuenca.
- 2) Cultivo y aislamiento de las cepas de Bacterias y Levaduras patógenas en base al empleo de técnicas de cultivo microbiológico y molecular.
- 3) Determinación de los perfiles de susceptibilidad de las cepas aisladas frente a diferentes agentes antibacterianos.
- 4) Estos resultados, producto de la investigación científica, serán difundidos en al menos un (01) artículo científico publicado en revistas indexadas en Latindex (u otros índices) y dos (02) tesis de grado.

Anexo 9.

Consentimiento Informado – Hoja 2.



RIESGOS Y BENEFICIOS
<ul style="list-style-type: none"> • No existen riesgos para los participantes. • El proyecto permitirá establecer estrategias terapéuticas para el tratamiento de estas infecciones en pacientes del área médica y odontológica.
CONFIDENCIALIDAD DE LOS DATOS
<p>Para nosotros es muy importante mantener su privacidad, por lo cual aplicaremos las medidas necesarias para que nadie conozca su identidad ni tenga acceso a sus datos personales:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. La información que nos proporcione se identificará con un código que reemplazará su nombre y se guardará en un lugar seguro donde solo el investigador tendrán acceso. 2. Si se toman muestras de su persona, estas muestras serán utilizadas solo para esta investigación y destruidas tan pronto termine el estudio. 3. Si usted está de acuerdo, las muestras que se tomen de su persona serán utilizadas para esta investigación y luego se las guardarán para futuras investigaciones removiendo cualquier información que pueda identificarlo (en caso de aplicar se procederá a la anonimización). 4. Su nombre no será mencionado en los reportes o publicaciones.
DERECHOS DEL PARTICIPANTE
<p>Usted puede decidir no participar y si decide no participar solo debe decírselo al investigador principal o a la persona que le explica este documento. Además aunque decida participar puede retirarse del estudio cuando lo desee, sin que ello afecte los beneficios de los que goza en este momento.</p> <p>Usted no recibirá ningún pago ni tendrá que pagar absolutamente nada por participar en este estudio.</p>
INFORMACIÓN DE CONTACTO
<p>Si usted tiene alguna pregunta sobre el estudio por favor llame a los siguientes teléfonos 0992096954 o 0958895616 que pertenece a Dra. Mgt. Jessica Sarmiento y Dra. Paola Orellana respectivamente, o envíe un correo electrónico a jsarmiento@ucacue.edu.ec o porellana@ucacue.edu.ec</p> <p>Si usted tiene preguntas sobre este formulario puede contactar al Dr. Carlos Flores Montesinos, coordinador del Comité Institucional de Bioética en Investigación de Seres Vivos de la Universidad Católica de Cuenca, Carrera de Medicina (cflores@ucacue.edu.ec)</p>

Anexo 10.

Consentimiento Informado – Hoja 3.



UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE CUENCA
COMUNIDAD EDUCATIVA AL SERVICIO DEL PUEBLO

CONSENTIMIENTO INFORMADO	
---------------------------------	--

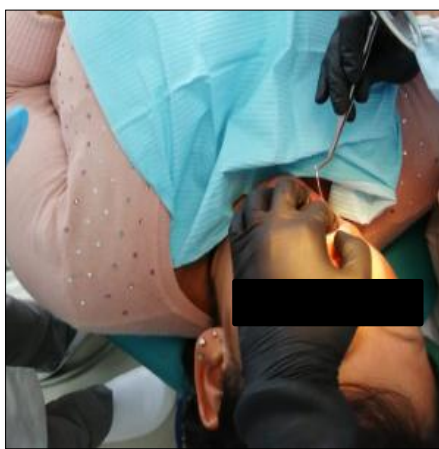
Comprendo mi participación en este estudio. Me han explicado los riesgos y beneficios de participar en un lenguaje claro y sencillo. Todas mis preguntas fueron contestadas. Me permitieron contar con tiempo suficiente para tomar la decisión de participar y me entregaron una copia de este formulario de consentimiento informado. Acepto voluntariamente participar en esta investigación.

Firma del participante	Fecha
Firma del testigo <i>(si aplica)</i>	Fecha
Nombre del investigador que obtiene el consentimiento informado: Dra. Mgt. Jessica Sarmiento y/o Dra. Paola Orellana	
Firma del investigador	Fecha

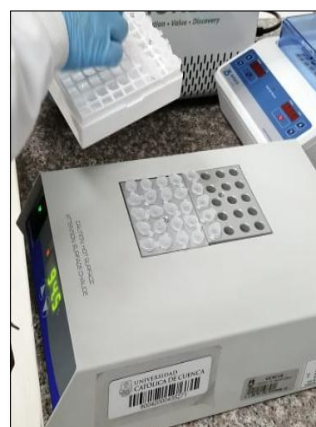
Anexo 11.

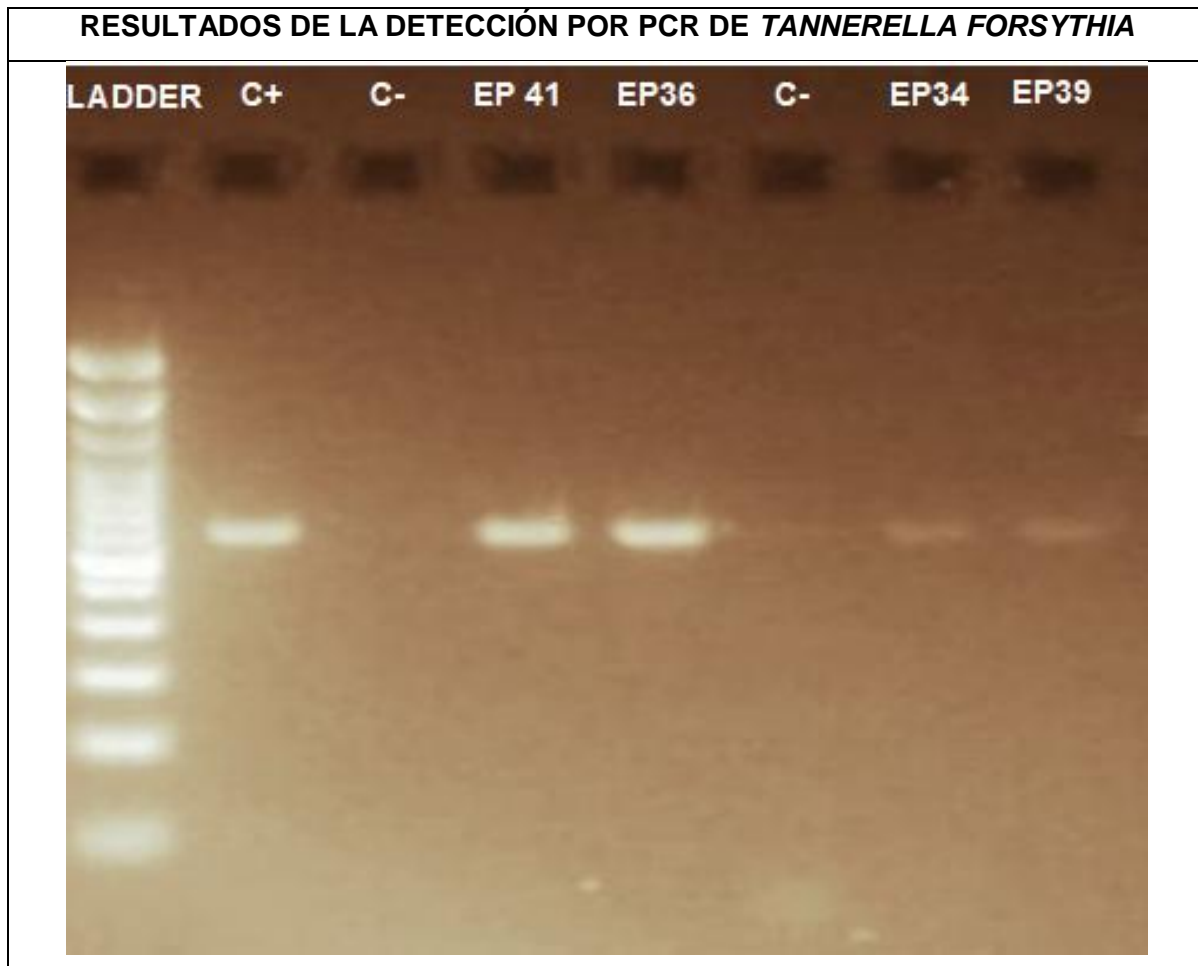
Procedimiento para la obtención de resultados

TOMA DE MUESTRAS



EXTRACCIÓN DE ADN





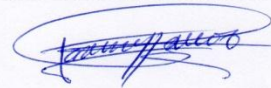
Anexo 12.

Antiplagio - Hoja 1

Tannerella forsythia

por Erika Fabiola Moscoso Arpi

Fecha de entrega: 03-oct-2019 01:13p.m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega: 1185454385
Nombre del archivo: Tannerlla_forsythia.docx (103.64K)
Total de palabras: 4898
Total de caracteres: 28443



Q.F. Carlos Andrade Tacuri MSc.
Magister en Biotecnología Molecular
Folio 23-18-172

Anexo 13.

Antiplagio - Hoja 2


 Q.F. Carlos Andrade Tacuri MSc.
 Magister en Biotecnología Molecular
 Folio 23-18-172

Tannerella forsythia

INFORME DE ORIGINALIDAD

6%	4%	3%	4%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	<p style="color: red;">Katherine Yuliana Saavedra-Olivos, Tessy Peralta-Ortiz, Alberto Ordinola-Zapata, John Estuardo Sandoval-Ramayoni et al. "Detección de una proteína asociada a la enfermedad de la necrosis hepatopancreatica aguda (AHPND) en Litopenaeus vannamei bajo cultivo semi-intensivo en Ecuador", Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 2018</p> <p style="font-size: small;">Publicación</p>	1%
2	<p style="color: magenta;">Submitted to Universidad Católica de Santa María</p> <p style="font-size: small;">Trabajo del estudiante</p>	<1%
3	<p style="color: blue;">doaj.org</p> <p style="font-size: small;">Fuente de Internet</p>	<1%
4	<p style="color: cyan;">Submitted to Universidad Autónoma de Nuevo León</p> <p style="font-size: small;">Trabajo del estudiante</p>	<1%
5	<p style="color: green;">Farias, B.C., P.R.E. Souza, B. Ferreira, R.S.A. Melo, F.B. Machado, E.S. Gusmão, and R. Cimões. "Occurrence of periodontal pathogens</p>	<1%


Anexo 14.

Permiso del autor de tesis

PERMISO DEL AUTOR DE TESIS PARA SUBIR AL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Yo Enla Fabiola Moscoso Arpi..... En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación "TANNERELLA EQUIMINA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD PERIODONTAL DE PROGRESIÓN LENTA QUE ACUDEN A LA CLÍNICA ODONTOLÓGICA DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA, PERÍODO MARZO - AGOSTO 2019....." de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de Los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, Así mismo; autorizo a la Universidad para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 15 de Octubre de 2019

F: 
de cédula 0106045461