



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Efectividad antibacteriana de un nanorecubrimiento de plata y cobre depositado sobre polipropileno en contra de microorganismos provenientes de muestras de biopelícula subgingival de pacientes con periodontitis

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

ESPECIALISTA EN PERIODONCIA E IMPLANTOLOGÍA

P R E S E N T A:

VELIA MARIANA PÉREZ BUCIO

TUTOR: Dra. ARGELIA ALMAGUER FLORES

ASESOR: Mtra. LORENA REYES CARMONA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Efectividad antibacteriana de un nanorecubrimiento de plata y cobre depositado sobre polipropileno en contra de microorganismos provenientes de muestras de biopelícula subgingival de pacientes con periodontitis.

Velia Mariana Pérez Bucio*, Lorena Reyes Carmona**, Argelia Almaguer-Flores§.

Resumen.

Introducción. La atención odontológica actual ha incrementado la seguridad del personal, mediante protocolos de atención, barreras de protección y el uso de equipo de protección personal (EPP), ante el riesgo de transmisión de microorganismos patógenos por contacto directo a través de gotas y aerosoles generados durante la atención dental. Recientemente, se desarrolló un nanorecubrimiento antibacteriano de 30 nm de espesor compuesto de plata (Ag) y cobre (Cu) (SakCu®) depositado sobre textiles de polipropileno (PP), utilizados para elaborar cubrebocas, mediante la técnica de magnetron sputtering.

Objetivo. Evaluar el efecto antibacteriano del nanorecubrimiento SakCu® depositado sobre textiles de polipropileno (PP), utilizando gotas contaminadas con microorganismos provenientes de muestras de biopelícula subgingival de pacientes con periodontitis.

Materiales y Métodos. Las muestras de biopelícula subgingival fueron obtenidas de pacientes atendidos en la Clínica de Periodoncia e Implantología de la FO, DEPeI, UNAM. De cada una de las muestras se elaboraron suspensiones y se colocaron gotas de 40 µL sobre textiles de PP con y sin el nanorecubrimiento, simulando el contacto con gotas contaminadas durante la atención dental. La evaluación del efecto antibacteriano se realizó mediante el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFCs).

Resultados. Los resultados mostraron una reducción del $57.8 \pm 9.7\%$ en la viabilidad de los microorganismos provenientes de las muestras de biopelícula subgingival que estuvieron en contacto con el nanorecubrimiento de AgCu.

Conclusiones. El nanorecubrimiento SakCu® tuvo efecto inhibitorio en la viabilidad de microorganismos de la cavidad oral que pudieran estar contaminando el EPP utilizado durante la atención odontológica.

Palabras clave.

Nanorecubrimiento, antibacteriano, plata, cobre, polipropileno, equipo de protección personal, biopelícula dental subgingival, periodontitis.

*Alumno de la especialidad de Periodoncia e Implantología, FO, DEPeI, UNAM.

** Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud, FO, UNAM.

§ Profesor Titular "A" de Tiempo Completo, Laboratorio de BioInterfases, FO, DEPeI, UNAM.

Abstract.

Introduction. Current dental care has increased staff safety through care protocols, protection barriers, and personal protective equipment (PPE), given the risk of transmission of pathogenic microorganisms by direct contact through drops and aerosols, generated during dental care. Recently, a 30 nm thick antibacterial nano-coating composed of silver (Ag) and copper (Cu) (SakCu®) was deposited on polypropylene (PP) textiles used to make face masks using the magnetron sputtering technique.

Objective. To evaluate the antibacterial effect of the SakCu® nano-coating deposited on polypropylene (PP) textiles, against microorganisms from subgingival biofilm samples of patients with periodontitis.

Materials and Methods. Subgingival biofilm samples were obtained from patients treated at the Periodontics and Implantology Clinic of the FO, DEPeI, UNAM. Suspensions were prepared from each sample and 40 µL were placed on PP textiles with and without the nano-coating, simulating contact with contaminated drops during dental care. The evaluation of the antibacterial effect was carried out by counting the colony-forming units (CFUs).

Results. A $57.8 \pm 9.7\%$ reduction was observed in the viability of microorganisms from the subgingival biofilm samples when in contact with the AgCu nano-coating.

Conclusions. The SakCu® nano-coating had an inhibitory effect on the viability of microorganisms in the oral cavity that could contaminate the PPE used during dental care.

Keywords.

Nanocoating, antibacterial, silver, copper, polypropylene, personal protective equipment, subgingival dental biofilm, periodontitis.

Introducción.

Uno de los primeros reportes documentados del uso de equipo de protección personal (EPP) o Personal Protective Equipment (PPE, por su siglas en inglés) data del siglo XIV, donde los médicos encargados de tratar la epidemia de la Peste Negra en la Edad Media utilizaban un sombrero negro, una máscara blanca con pico que contenía sustancias aromáticas para bloquear el olor de los cuerpos en descomposición y una bata encerada, siendo esta vestimenta la primera versión de un traje protector contra enfermedades peligrosas [1]. Sin embargo, el uso del EPP para proteger la seguridad del personal de salud fue estandarizado hasta las décadas de 1970 y 1980, luego de la aprobación de la Ley de Salud y Seguridad Ocupacional de 1970 en los Estados Unidos [2]. Uno de los materiales más utilizados en la fabricación de EPP es el polipropileno (PP), un material no tejido, ligero, resultado de la polimerización del monómero de propileno. Debido a sus propiedades físico/químicas como dureza, ligereza, alta estabilidad térmica, resistencia bacteriana, estabilidad dimensional, especialmente a través de ciclos de esterilización repetidos, resistencia a diversos químicos como alcoholes, ácidos, bases, entre otros, es un material altamente utilizado en la fabricación de EPP [3].

La selección del EPP depende del tipo y tiempo de exposición o actividad, con la finalidad de proteger tanto a los pacientes como a los trabajadores de la salud de los patógenos transmisibles durante su atención [4]. Mantener la seguridad en los procedimientos dentales se ha convertido en un desafío para el personal odontológico y para los encargados de formular políticas de seguridad sanitaria, debido a la gran producción de gotas y aerosoles generados durante los diversos tratamientos dentales [5-7]. El Grupo Asesor Nacional sobre Amenazas de Virus Respiratorios Emergentes del Reino Unido (National Services Scotland (NSS), por sus siglas en inglés) ha descrito que los procedimientos dentales, sobre todo los que utilizan dispositivos de alta velocidad como los equipos ultrasónicos y piezas rotatorias, presentan un mayor riesgo de transmisión de infecciones respiratorias [4]. Siendo las piezas rotatorias de alta velocidad consideradas las de mayor riesgo de transmisión, ya que durante su uso se pueden producir aerosoles que alcanzan hasta 5 m por segundo, lo que hace que las gotas contaminadas puedan llegar de manera inmediata al dentista y personal cercano al sitio de atención [2, 4, 6].

La cavidad bucal alberga una gran cantidad de microorganismos que conviven de manera homeostática con el huésped [8]. Enfermedades como la periodontitis que se caracteriza por una inflamación mediada por el huésped, es causada por el aumento de microorganismos patógenos que se encuentran en una biopelícula dental disbiótica y que resulta en la pérdida progresiva de la inserción periodontal [9, 10]. La biopelícula dental, la cual se define como la organización de microorganismos en comunidades que crecen agregados y rodeados por una matriz extracelular que ellos mismos producen. conformada por proteínas, ácido desoxirribonucleico (DNA) extracelular y exopolisacáridos (EPS) [11]. El tratamiento de la periodontitis incluye diversos procedimientos, como la desorganización de la biopelícula dental y la eliminación de cálculo dental de manera sónica y ultrasónica [12], provocando la generación de gotas y aerosoles contaminados con diversos microorganismos presentes en la cavidad oral como bacterias, hongos y virus [13]. Estos microorganismos pueden mantenerse viables durante minutos e incluso horas, causando la contaminación del equipo de protección personal del profesional a cargo [14, 15].

Una de las propuestas más actuales para disminuir el riesgo de contaminación por gotas y aerosoles cargados con microorganismos, es el depósito de nanorecubrimientos

con propiedades antimicrobianas sobre textiles utilizados para equipo de protección personal como batas, gorros, botas y cubrebocas [16, 17]. La técnica más utilizada para hacer dicho depósito es la pulverización catódica (magnetron sputtering, término en inglés) [18, 19], mediante la cual los átomos o moléculas contenidas en un blanco (material que se quiere depositar) son expulsados mediante un bombardeo de partículas generadas por un plasma de alta energía y depositadas sobre una superficie específica. Esta técnica, permite una deposición de metales y aleaciones de alta pureza, con buena adhesión y homogeneidad, incluso sobre sustratos de gran superficie [19]. Entre las diferentes aplicaciones de los nanorecubrimientos en el área biomédica, se encuentra su uso para mejorar la biocompatibilidad de diversos aditamentos protésicos como prótesis ortopédicas, implantes dentales y válvulas cardiovasculares, así como de proveer propiedades antimicrobianas, entre otros [16, 17].

Recientemente se desarrolló un nanorecubrimiento de 30 nm de grosor de plata (Ag) y cobre (Cu) (SakCu®) depositado con la técnica de magnetron sputtering sobre textiles de polipropileno (PP) utilizados para elaborar cubrebocas. En ese estudio se evaluaron las propiedades virucidas de este nanorecubrimiento contra el nuevo coronavirus SARS-CoV-2 y bacterias patógenas ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter*). Los resultados mostraron que el nanorecubrimiento SakCu® tiene capacidad antimicrobiana para disminuir el riesgo de transmisión de COVID-19 y bacterias patógenas importantes a nivel comunitario y nosocomial [20].

El mecanismo antimicrobiano de la Ag y el Cu ya sea en recubrimientos o en nanopartículas, se ha descrito como un proceso de liberación de iones debido a su exposición a entidades reactivas generadas intracelularmente [21]. Estas entidades incluyen especies de oxígeno y nitrógeno altamente reactivas que pueden corroer, degradar o disolver las nanopartículas en sus átomos constituyentes [22].

Los iones de plata tienen la capacidad de interferir con las reacciones metabólicas normales y plasmáticas. También pueden interactuar con el DNA bacteriano y con los grupos tiol reactivos (cisteínas) de proteínas bacterianas específicas, aumentando el daño a las células. Esta interacción provoca cambios estructurales en las bacterias, lo que conduce a la muerte celular. Su actividad antimicrobiana es proporcional a la liberación de iones, cuanto mayor sea la concentración de Ag y la relación área superficial/volumen, mayor será su efecto antimicrobiano [23-26].

En el 2008, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA por sus siglas en inglés) reconoció oficialmente al cobre y sus aleaciones como el primer agente antimicrobiano metálico efectivo. La EPA reportó que el Cu puede alcanzar una efectividad bactericida cercana al 99.9%, la cual aumenta proporcionalmente a su concentración, mediante un mecanismo conocido como "eliminación por contacto" ("contact killing" por su término en inglés) [27]. Sin embargo, los mecanismos exactos involucrados en la llamada "eliminación por contacto" aún no se comprenden completamente; pero, se le atribuyen propiedades antibacterianas, antifúngicas y antivirales. Específicamente el efecto antibacteriano de los iones de cobre provocan la permeabilidad y ruptura de la membrana celular bacteriana, la desnaturalización y alteración en la síntesis de las proteínas, daño al DNA (que contiene fósforo y azufre) a través de la inactivación enzimática y a la producción de peróxido de hidrógeno, provocando finalmente la muerte celular [28]. Al igual que la plata, el cobre puede inhibir la formación de biopelículas, y también ha demostrado una mayor actividad bactericida contra microorganismos como *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*

en comparación con la Ag [29].

Considerando todos estos antecedentes, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antibacteriano de un nanorecubrimiento de AgCu depositado sobre textiles de polipropileno (PP) en contra de microorganismos provenientes de muestras de biopelícula subgingival de pacientes con periodontitis, simulando el contacto con gotas contaminadas durante la atención dental.

Materiales y métodos.

El presente proyecto fue un estudio experimental *in vitro* que consistió en la toma de muestras de biopelícula subgingival de pacientes con periodontitis estadio III o IV, en la Clínica de Periodoncia e Implantología, de la División de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Odontología, UNAM (DEPeI FO UNAM) por parte de un mismo clínico calibrado (VMPB*). Posteriormente, en el Laboratorio de Biointerfases, DEPeI, FO, UNAM, se evaluó la capacidad antibacteriana de un nanorecubrimiento de AgCu (SakCu®) depositado sobre textiles de polipropileno (PP) sobre los microorganismos obtenidos de las muestras de biopelícula subgingival.

A. PREPARACIÓN Y DEPÓSITO DEL NANORECUBRIMIENTO DE AgCu.

Todos los textiles de PP con el nanorecubrimiento SakCu® de plata y cobre, fueron preparados en el Instituto de Investigaciones en Materiales (IIM) UNAM, mediante la técnica de magnetron sputtering. Una vez depositado el nanorecubrimiento se cortaron discos de 1 cm de diámetro tanto del polipropileno sin recubrir (PP) como del polipropileno con el nanorecubrimiento (PP-AgCu). Todos los discos fueron esterilizados con autoclave (Cristofoli Vitale21) antes de ser utilizados en los experimentos.

B. POBLACIÓN DE ESTUDIO.

La población de sujetos de estudio consistió en un total de cinco personas mexicanas por nacimiento que no hubieran recibido ningún tipo de tratamiento periodontal en el pasado, más allá de profilaxis. El número de pacientes y de muestras se estableció con base en el estudio previamente reportado por parte de nuestro grupo de trabajo [30].

Criterios de selección y captura de sujetos de estudio.

En la **Tabla 1** se proporciona una descripción de los criterios utilizados para la selección de la población de estudio.

Todos los sujetos de estudio provinieron de la población de pacientes que recibieron atención en la Clínica de Periodoncia e Implantología de la DEPeI FO, UNAM durante el periodo de agosto a septiembre del 2022. Si el paciente cumplía con todos los criterios de inclusión del estudio, se le invitó a participar en él. Una vez que el paciente entendió su participación en el estudio y expresó su deseo de participar, firmó la carta de consentimiento informado (**Anexo A**), estableciendo así formalmente su entendimiento sobre el estudio y el deseo voluntario de participar en él.

C. EVALUACIÓN CLÍNICA.

Cada sujeto de estudio recibió una evaluación periodontal completa realizada por un clínico calibrado para este propósito ($\kappa = 0.85$) (VMPB*). Todas las mediciones clínicas fueron tomadas en una sola visita y registradas de 6 sitios por diente (mesiobucal, bucal, distobucal, distolingual, lingual y mesiolingual) de todos los dientes de la boca de cada participante de estudio excluyendo los terceros molares (máximo 168 sitios por sujeto dependiendo del número de dientes faltantes) de acuerdo con el procedimiento previamente descrito en la literatura [31].

Los parámetros clínicos evaluados y el orden de las mediciones se realizaron de la siguiente manera:

- Profundidad de bolsa (mm)
- Nivel de inserción (mm)
- Acumulación de biopelícula (0 ó 1)
- Enrojecimiento gingival (0 ó 1)
- Sangrado al sondaje (0 ó 1)
- Supuración al sondaje (0 ó 1)

La profundidad de bolsa y el nivel de inserción fueron registradas dos veces por el mismo clínico y el promedio de las dos mediciones fue utilizado para el análisis de datos. El resto de los parámetros clínicos fueron evaluados en una sola ocasión con mediciones dicotómicas de presencia (1) ó ausencia (0) (**Anexo B**).

D. RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA DE BIOPELÍCULA SUBGINGIVAL.

Después de la evaluación clínica, se recolectaron las muestras de biopelícula subgingival del sitio mesiobucal de cualquiera de los primeros molares presentes en cada sujeto de estudio, utilizando curetas Gracey 11/12 estériles marca Hu-Friedy (N = 5 pacientes, n = 5 muestras). Cada muestra fue colocada en un tubo para microcentrifuga con 1 mL de caldo de cultivo enriquecido MB (*Mycoplasma broth base*, 0.3 $\mu\text{g/mL}$ de menadiona (vitamina K, Sigma-Aldrich) y 5 $\mu\text{g/mL}$ de hemina (Sigma-Aldrich)). El tiempo entre la recolección de muestras y el término de su procesamiento no excedió los 40 minutos.

E. EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA DEL NANORECUBRIMIENTO DE Ag-Cu DEPOSITADO SOBRE TEXTILES DE POLIPROPILENO (PP).

Cada muestra de biopelícula subgingival fue dispersada mediante agitación vigorosa (vórtex marca Corning LSE Vórtex Mixer) por tres periodos de 5 segundos para obtener una suspensión bacteriana homogénea en el caldo de cultivo. Posteriormente, se sembraron 40 μL de esta suspensión bacteriana (gota) sobre discos de polipropileno con y sin el nanorecubrimiento. Una vez colocada la gota de la suspensión con la muestra de biopelícula, los discos fueron incubados por 24 h a 35 °C en una cámara de anaerobiosis con ambiente de 80% N_2 , 10% CO_2 y 10% H_2 (Coy Laboratory Products Inc., Michigan USA) (**Figura 1A**).

Después del tiempo de incubación, cada disco fue colocado de manera individual en un tubo de microcentrifuga de 2 mL con 500 μL de caldo de cultivo enriquecido MB y se le realizó agitación vigorosa (vórtex) por tres periodos de 5 segundos para desprender

las bacterias presentes en cada disco con y sin nanorecubrimiento (**Figura 1B**). De la suspensión obtenida se realizaron cinco diluciones seriales (1:100) y se sembraron 5 µL de cada una de ellas en placas de Petri con agar HK enriquecido (TSA, Brain Heart Infusion Agar, Yeast extract, suplementado con 25 mL (5 %) sangre de carnero defibrinada (Lab Microlab S.A. de C.V.), menadiona (vitamina K) 5mL (0.3 µg/mL) y 5 mL (5 µg/mL) de hemina). Una vez sembradas todas las diluciones, las placas Petri fueron incubadas a 35 °C en condiciones anaeróbicas por 5 días. Después de la incubación, se realizaron los conteos de las unidades formadoras de colonias (UFCs) de cada una de las diluciones sembradas para determinar el efecto inhibitorio del nanorecubrimiento de AgCu en el crecimiento bacteriano (**Figura 1C**).

El número de UFCs/mL total se calculó con base en la siguiente fórmula:

$$\#UFCs/mL = \frac{\#UFCs}{Volumen} \times (FID)$$

Donde:

#UFCs: número de Unidades Formadoras de Colonias

FID: Factor inverso de la dilución

Volumen: volumen de la solución sembrada (5 µL = 0.005 mL)

Mientras que la efectividad antibacteriana del nanorecubrimiento de AgCu sobre los microorganismos cultivables de cada una de las muestras de biopelícula subgingival, fue expresada como porcentaje de inhibición de cada paciente de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \left(\frac{A1 - A2}{A1} \right) \times 100$$

Donde:

A1: número de UFCs que crecieron en placas Petri con polipropileno (control negativo).

A2: número de UFCs que crecieron en presencia del nanorecubrimiento de AgCu (experimental).

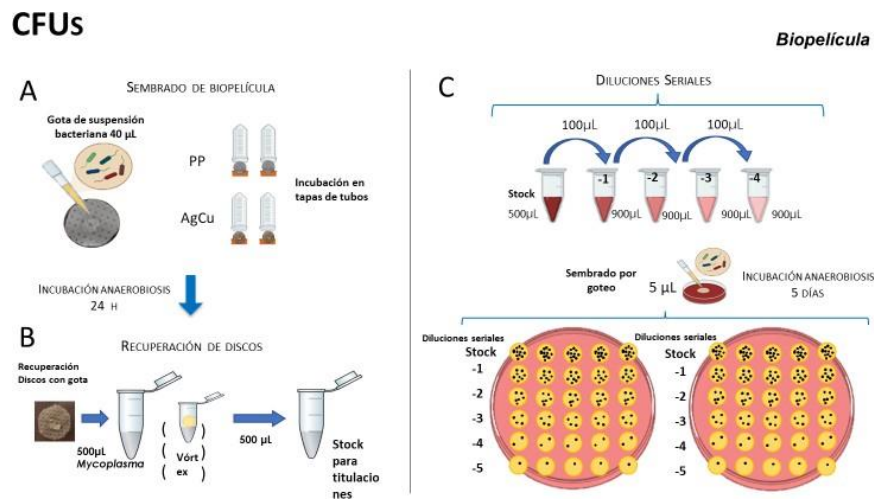


Figura 1. Procesamiento de muestras de biopelícula. **A.** Sembrado de biopelícula. **B.** recuperación de las muestras de biopelícula expuestas a PP y PP-AgCu. **C.** Diluciones seriales y sembrado de las mismas para cuantificar las UFC's.

Ética.

El presente proyecto ha sido aprobado por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Odontología, UNAM (**CIE/0102/08/2022**).

Análisis estadístico.

Todos los experimentos se realizaron por duplicado. Los resultados se expresaron como valores de la Media \pm EEM (error estándar de la media). La significancia estadística se determinó mediante la prueba T-student pareada y se consideraron diferencias estadísticamente significativas a partir de una $p < 0.05$, utilizando el programa Prism GraphPad 8.0.1.

Resultados.

Características de la población de estudio.

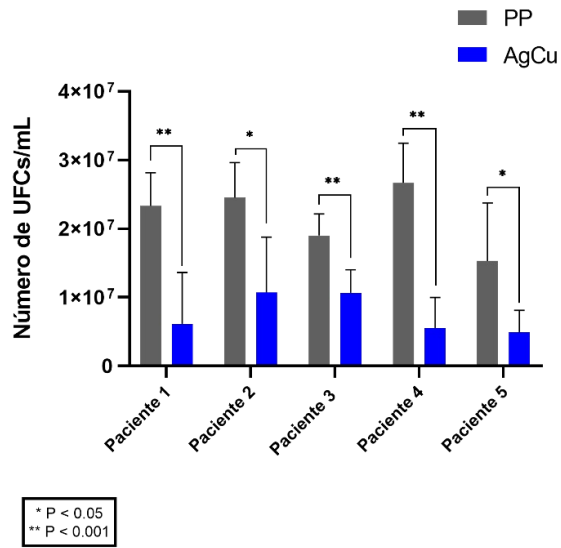
Las características de los pacientes seleccionados para el estudio se resumen en la **Tabla 2**.

Evaluación del efecto antibacteriano del nanorecubrimiento de AgCu (SakCu®).

La evaluación del efecto antibacteriano del nanorecubrimiento de AgCu en contra de las especies bacterianas provenientes de las muestras de biopelícula subgingival, se realizó mediante el conteo de las UFCs de las placas de Petri sembradas en la dilución -4 de las muestras expuestas a los textiles de PP y PP-AgCu.

Los resultados de los conteos de las UFCs así como el porcentaje de inhibición de las bacterias expuestas a los textiles con y sin el nanorecubrimiento (PP y PP-AgCu), se muestran en la **Figura 2**.

Los datos demostraron una disminución en el crecimiento del número de microorganismos que fueron expuestos al nanorecubrimiento de AgCu, comparado con el número de bacterias presentes en los textiles de PP sin el nanorecubrimiento, en todas las muestras que fueron evaluadas. Esta disminución fue estadísticamente significativa en las muestras de todos los pacientes que fueron expuestas al nanorecubrimiento vs. las mismas muestras que no fueron expuestas al nanorecubrimiento ($p < 0.05$ y $p < 0.001$). De acuerdo con esto, el mayor porcentaje de inhibición que presentó la muestra de biopelícula de un paciente expuesto al nanorecubrimiento fue del ~80 %, mientras que el menor porcentaje de inhibición en otro paciente que se pudo observar fue de ~33 %. La media en el porcentaje de inhibición de las muestras de biopelícula subgingival expuestas al nanorecubrimiento de AgCu fue de ~60 %. En la **Figura 3A** se presentan las características radiográficas y una imagen del sitio muestreado del paciente 1 incluido en el estudio, mientras que la **Figura 3B**, muestra un ejemplo del sembrado de las diluciones seriales de las muestras de biopelícula que estuvieron en contacto con y sin el nanorecubrimiento de AgCu.



Pacientes	# de UFCs/5 μ L		% de inhibición del nanorecubrimiento
	PP	PP-AgCu	
Paciente 1	12 \pm 0.5	3 \pm 0.7	74.4 %
Paciente 2	14.7 \pm 0.6	13 \pm 0.4	36.7 %
Paciente 3	9.1 \pm 0.3	6.1 \pm 0.4	32.9 %
Paciente 4	13.6 \pm 0.4	2.7 \pm 0.4	80 %
Paciente 5	7.6 \pm 0.7	2.6 \pm 0.4	65.1 %
Media \pm EEM	10.9 \pm 1.1	4.4 \pm 1.1	57.8 \pm 9.7 %

Figura 2. Conteo de las UFCs/mL totales de las bacterias expuestas a los textiles con y sin el nanorecubrimiento (PP y PP-AgCu) provenientes de las muestras de biopelícula subgingival de 5 pacientes con periodontitis. La tabla presenta el número de UFCs que crecieron en la dilución -4 y el porcentaje de inhibición de las bacterias expuestas al nanorecubrimiento.

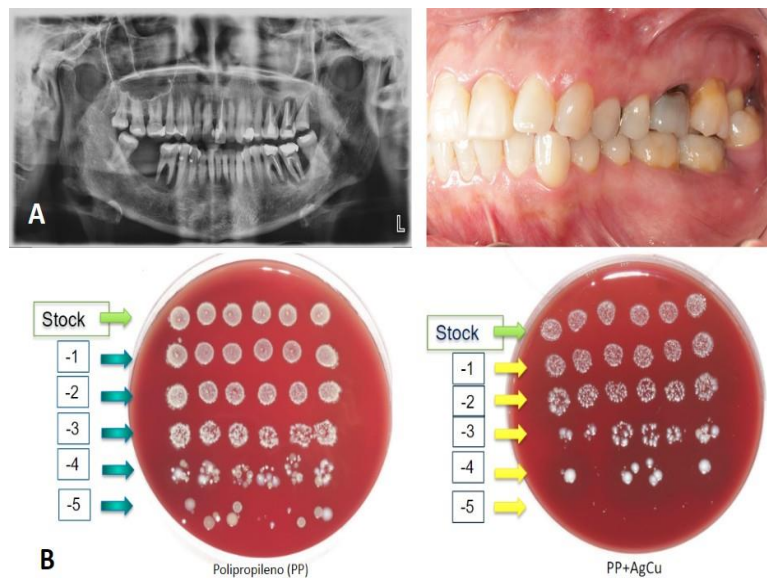


Figura 3. A. Características clínicas y radiográficas del paciente 1 incluido en el estudio, el sitio de obtención de la muestra de biopelícula subgingival fue del diente 26. **B.** Ejemplo del sembrado de las diluciones seriales para realizar los conteos de UFCs para determinar el efecto del contacto con el nanorecubrimiento de AgCu en el crecimiento bacteriano.

Discusión.

En la presente investigación se evaluó el efecto antibacteriano de un nanorecubrimiento de plata-cobre (AgCu) depositado sobre textiles de polipropileno (PP) mediante la técnica de “magnetron sputtering” en contra de microorganismos provenientes de muestras de biopelícula subgingival de pacientes con periodontitis, simulando gotas contaminadas durante la atención dental. Esto, con el objetivo de determinar el potencial de este nanorecubrimiento para ser usado en EPP como cubrebocas, batas y gorros, en el control de infecciones.

A pesar de que en la presente investigación, no se realizó una identificación de los microorganismos que estuvieron expuestos al nanorecubrimiento de AgCu (SakCu®), se tiene la seguridad de que se incluyeron bacterias periodontopatógenas ya que estudios previos han confirmado que tanto la biopelícula dental supra y subgingival, así como en la biopelícula localizada en la lengua y en la saliva de los pacientes, albergan especies periodontopatógenas independientemente del estado de salud periodontal [32, 33].

La composición del microbioma oral se puede asociar a la gravedad o sinergia incluso con otras enfermedades sistémicas [34, 35]. Es importante ser conscientes que los microorganismos transportados por el aire y el microbioma oral son las principales fuentes de infección pulmonar, ya que es bien conocido que la cavidad oral es el punto de entrada para el sistema digestivo y parte del sistema respiratorio, por lo que no es sorpresa que se compartan algunos microorganismos de la microbiota de ambos sistemas [36]. Debido a que la orofaringe y el árbol traqueobronquial son contiguos, la microaspiración continua probablemente siembra los pulmones con bacterias orales. La microaspiración es común incluso en sujetos sanos [37] y más frecuente en aquellos con enfermedades pulmonares, incluida la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, apnea obstructiva del sueño, fibrosis quística, fibrosis pulmonar, micobacterias no tuberculosas y neumonía [38]. El tabaquismo o la exposición a la contaminación del aire inhiben aún más la eliminación mucociliar de las bacterias. Debido a la continuidad topográfica de las vías respiratorias superiores e inferiores es viable la microaspiración de especies bacterianas anaerobias de las vías respiratorias superiores por ejemplo, *Prevotella* o *Veillonella* las cuales inducen una respuesta inmune TH17 de la capa mucosa de las vías respiratorias inferiores [35].

Con lo descrito anteriormente, se destaca la importancia de evitar la contaminación con aerosoles o gotas contaminadas durante la atención odontológica, puesto que está comprobado que la microaspiración bacteriana es posible, causando daño a nivel pulmonar, a pesar de existir una salud pulmonar en la persona.

Por lo tanto, la utilización de la plata y el cobre en textiles de PP representa una excelente opción para el control de infecciones durante la atención odontológica. De igual manera, ambos metales en tamaño nanométrico se han reportado como una alternativa al uso de antibióticos con excelentes resultados contra una gran diversidad de bacterias orales, así como en la adición a enjuagues bucales y dentífricos con la finalidad de evitar la formación de la biopelícula dental, específicamente contra *Streptococcus* spp. en su estado planctónico y contra especies como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, SARM (*S. aureus* resistente a meticilina), *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*. Aunque, también se ha reportado su uso en sistemas adhesivos y materiales de restauración mejorando las propiedades de los mismos [28, 39-42].

Respecto a la utilización de los nanorecubrimientos de Ag y Cu en el ámbito biomédico, se ha reportado su utilización sobre superficies de implantes dentales y prótesis ortopédicas hechas a base de aleaciones de titanio (Ti). La adición de estos metales mediante películas delgadas a través de la técnica de magnetron sputtering a estos

aditamentos, demostraron su eficacia en proteger a la superficies de Ti contra el proceso de corrosión y mejoraron sus propiedades mecánicas superficiales [43], y también en otro estudio se reportó la capacidad antifúngica de un nanorecubrimiento de hidroxiapatita (HA) y plata en contra *C. albicans* [44].

Un estudio realizado por Meister y cols., comparó las propiedades antimicrobianas y antivirales de películas delgadas hechas con plata, cobre y platino, depositadas de diferentes maneras a los que llamaron nanoparches. Las evaluaciones antibacterianas y antivirales se hicieron contra *S. aureus* y contra SARS-CoV-2. Los resultados mostraron que los nanoparches finos de Ag/Cu previnieron eficazmente el crecimiento bacteriano después de 24 h de incubación y que dicha combinación ejercía una actividad antiviral y antibacteriana significativamente mayor que las películas constituidas de uno solo de los metales. Esta mejora en la efectividad antimicrobiana la atribuyeron a una sinergia de ambos metales impulsada electroquímicamente [29].

En concordancia con los resultados de los estudios anteriores, en el presente trabajo se demostró la efectividad antimicrobiana del nanorecubrimiento SakCu®, depositado sobre textiles de polipropileno, sobre microorganismos provenientes de biopelícula dental subgingival de pacientes con periodontitis y cuyas muestras microbiológicas pueden contener altos niveles de bacterias anaerobias y facultativas Gram negativas [45]. Por lo que, la disminución que se obtuvo de los microorganismos de la biopelícula subgingival en nuestro estudio, demuestran la efectividad del nanorecubrimiento AgCu (SakCu®) para disminuir la viabilidad de bacterias presentes en la biopelícula subgingival, y su potencial para mejorar el control de infecciones en el consultorio dental o ambientes expuestos a aerosoles contaminados con estos microorganismos. De igual manera, la disminución de bacterias periodontopatógenas en contacto con el nanorecubrimiento de AgCu, abre la puerta para más investigaciones respecto a mayores aplicaciones en el ámbito periodontal e implantológico.

Conclusiones.

El nanorecubrimiento de AgCu (SakCu®) sobre textiles de polipropileno, disminuyó significativamente la viabilidad de bacterias provenientes de la biopelícula subgingival de pacientes con periodontitis que pudieran estar contaminando el EPP utilizado durante la atención odontológica.

Agradecimientos.

Este proyecto fue financiado por UNAM-PAPIIT # IT201121. Los autores agradecen el apoyo técnico de la laboratorista L. Cruz-Fonseca de la Facultad de Odontología, UNAM.

Referencias.

1. Glatter, K.A. and P. Finkelman, *History of the Plague: An Ancient Pandemic for the Age of COVID-19*. Am J Med, 2021. 134(2): p. 176-181.
2. Honda, H. and K. Iwata, *Personal protective equipment and improving compliance among healthcare workers in high-risk settings*. Curr Opin Infect Dis, 2016. 29(4): p. 400-6.
3. Maddah, H., *Polypropylene as a Promising Plastic: A Review*. American Journal of Polymer Science,

2016. 6(1): p. 1 - 11.
4. Scotland, N.N.S., *Assessing the evidence base for medical procedures which create a higher risk of respiratory infection transmission from patient to healthcare Worker.*, N.H. Services, Editor. 2020: Scotland. (accesada en julio del 2023).
 5. Amato, A., et al., *Infection Control in Dental Practice During the COVID-19 Pandemic*. Int J Environ Res Public Health, 2020. 17(13).
 6. Judson, S.D. and V.J. Munster, *Nosocomial Transmission of Emerging Viruses via Aerosol-Generating Medical Procedures*. Viruses, 2019. 11(10).
 7. Araujo, M.W.B., C.G. Estrich, and M. Mikkelsen, *COVID-2019 Among Dentists in the United States: A 6-Month Longitudinal Report of Accumulative Prevalence and Incidence (vol 152, pg 425, 2021)*. Journal of the American Dental Association, 2021. 152(8): p. 588-588.
 8. Aas, J.A., et al., *Defining the normal bacterial flora of the oral cavity*. J Clin Microbiol, 2005. 43(11): p. 5721-32.
 9. Papapanou, P.N., et al., *Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions*. J Clin Periodontol, 2018. 45 Suppl 20: p. S162-S170.
 10. Tonetti, M.S., H. Greenwell, and K.S. Kornman, *Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition*. J Periodontol, 2018. 89 Suppl 1: p. S159-S172.
 11. Allewell, N.M., *Introduction to Biofilms Thematic Minireview Series*. J Biol Chem, 2016. 291(24): p. 12527-12528.
 12. Sanz, M., et al., *Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline*. J Clin Periodontol, 2020. 47 Suppl 22(Suppl 22): p. 4-60.
 13. Mirhoseini, S.H., et al., *Quantitative and qualitative assessment of microbial aerosols in different indoor environments of a dental school clinic*. Aerobiologia (Bologna), 2021. 37(2): p. 217-224.
 14. Kramer, A., I. Schwebke, and G. Kampf, *How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review*. BMC Infect Dis, 2006. 6: p. 130.
 15. Wissmann, J.E., et al., *Persistence of Pathogens on Inanimate Surfaces: A Narrative Review*. Microorganisms, 2021. 9(2).
 16. Wang, J., et al., *Mask use during COVID-19: A risk adjusted strategy*. Environ Pollut, 2020. 266(Pt 1): p. 115099.
 17. Phuna, Z.X., et al., *Nanoprotection from SARS-COV-2: would nanotechnology help in Personal Protection Equipment (PPE) to control the transmission of COVID-19?* Int J Environ Health Res, 2022: p. 1-30.
 18. Tan, X.Q., et al., *Recent Progress in Magnetron Sputtering Technology Used on Fabrics*. Materials (Basel), 2018. 11(10).
 19. Tudose, I.V., et al., *Chemical and physical methods for multifunctional nanostructured interface fabrication.*, in *Functional Nanostructured Interfaces for Environmental and Biomedical Applications*. 2019, Elsevier. p. 15-26.
 20. Bello-Lopez, J.M., et al., *Biocide effect against SARS-CoV-2 and ESKAPE pathogens of a noncytotoxic silver-copper nanofilm*. Biomed Mater, 2021. 17(1).
 21. Lopez-Martin, R., et al., *Effectiveness of Silver Nanoparticles Deposited in Facemask Material for Neutralising Viruses*. Nanomaterials (Basel), 2022. 12(15).
 22. Martinez-Gutierrez, F., et al., *Anti-biofilm activity of silver nanoparticles against different microorganisms*. Biofouling, 2013. 29(6): p. 651-60.
 23. Park, M.V., et al., *The effect of particle size on the cytotoxicity, inflammation, developmental toxicity and genotoxicity of silver nanoparticles*. Biomaterials, 2011. 32(36): p. 9810-7.
 24. Elechiguerra, J.L., et al., *Interaction of silver nanoparticles with HIV-1*. J Nanobiotechnology, 2005. 3: p. 6.

25. Cadinoiu, A.N., et al., *Silver Nanoparticles Biocomposite Films with Antimicrobial Activity: In Vitro and In Vivo Tests*. Int J Mol Sci, 2022. 23(18).
26. Jang, J., et al., *Development of Antibiofilm Nanocomposites: Ag/Cu Bimetallic Nanoparticles Synthesized on the Surface of Graphene Oxide Nanosheets*. ACS Appl Mater Interfaces, 2020. 12(32): p. 35826-35834.
27. Vincent, M., et al., *Contact killing and antimicrobial properties of copper*. J Appl Microbiol, 2018. 124(5): p. 1032-1046.
28. Xu, V.W., et al., *Application of Copper Nanoparticles in Dentistry*. Nanomaterials (Basel), 2022. 12(5).
29. Meister, T.L., et al., *Nanoscale copper and silver thin film systems display differences in antiviral and antibacterial properties*. Sci Rep, 2022. 12(1): p. 7193.
30. Reyes-Carmona, L., et al., *Antimicrobial evaluation of bismuth subsalicylate nanoparticles synthesized by laser ablation against clinical oral microorganisms*. Optics and Laser Technology, 2023. 158.
31. Haffajee, A.D., S.S. Socransky, and J.M. Goodson, *Comparison of different data analyses for detecting changes in attachment level*. J Clin Periodontol, 1983. 10(3): p. 298-310.
32. Ximenez-Fyvie, L.A., A.D. Haffajee, and S.S. Socransky, *Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis*. J Clin Periodontol, 2000. 27(9): p. 648-57.
33. Mager, D.L., et al., *Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces*. J Clin Periodontol, 2003. 30(7): p. 644-54.
34. Kozak, M. and A. Pawlik, *The Role of the Oral Microbiome in the Development of Diseases*. Int J Mol Sci, 2023. 24(6).
35. Segal, L.N., et al., *Enrichment of the lung microbiome with oral taxa is associated with lung inflammation of a Th17 phenotype*. Nat Microbiol, 2016. 1: p. 16031.
36. Pathak, J.L., et al., *The role of oral microbiome in respiratory health and diseases*. Respir Med, 2021. 185: p. 106475.
37. Cvejic, L., et al., *Laryngeal penetration and aspiration in individuals with stable COPD*. Respirology, 2011. 16(2): p. 269-75.
38. Koh, W.J., et al., *Prevalence of gastroesophageal reflux disease in patients with nontuberculous mycobacterial lung disease*. Chest, 2007. 131(6): p. 1825-30.
39. Camacho-Flores, B.A., et al., *Copper: Synthesis Techniques in Nanoscale and Powerful Application as an Antimicrobial Agent*. Journal of Nanomaterials, 2015. 2015.
40. Dudek-Wicher, R., et al., *The antibiofilm activity of selected substances used in oral health prophylaxis*. BMC Oral Health, 2022. 22(1): p. 509.
41. Yin, I.X., et al., *The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry*. Int J Nanomedicine, 2020. 15: p. 2555-2562.
42. Leinfelder, K., *The enigma of dental amalgam*. J Esthet Restor Dent, 2004. 16(1): p. 3-5.
43. Mazur, M., et al., *Determination of structural, mechanical and corrosion properties of Nb₂O₅ and (Nb_yCu_{1-y})Ox thin films deposited on Ti6Al4V alloy substrates for dental implant applications*. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2015. 47: p. 211-21.
44. Ciuca, S., et al., *Evaluation of Ag containing hydroxyapatite coatings to the Candida albicans infection*. J Microbiol Methods, 2016. 125: p. 12-8.
45. Socransky, S.S., et al., *Microbial complexes in subgingival plaque*. J Clin Periodontol, 1998. 25(2): p. 134-44.



CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL PROYECTO: “Evaluación de la capacidad antimicrobiana de recubrimientos nanométricos depositados sobre textiles de uso médico y odontológico.”

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dra. Argelia Almaguer Flores

INVESTIGADORES ASOCIADOS: Dra. Sandra E. Rodil Posada
Dr. Omar Alejandro Sepúlveda Robles
Dra. Gina Prado Prone
Mtra. Lorena Reyes Carmona
C.D. Velia Mariana Pérez Bucio
C.D. Alejandro Lee Colín

INSTITUCIÓN DONDE SE REALIZARÁ EL ESTUDIO: División de Estudios de Posgrado e Investigación
Facultad de Odontología, UNAM.

INVITACIÓN A PARTICIPAR: Usted está invitado a participar en un estudio de investigación odontológica que analiza el efecto antimicrobiano de nanorecubrimientos metálicos y de óxidos metálicos depositado sobre textiles, utilizando muestras de las bacterias que habitan en su boca y que tienen potencial de causar enfermedades bucales y respiratorias.

Antes de decidir sobre su participación, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto y así ayudarlo aclarando sus dudas al respecto. Una vez que haya leído esta carta de consentimiento y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

PROPÓSITO DEL ESTUDIO: La finalidad de este estudio es mejorar las barreras de protección personal como lo son cubrebocas. Por lo que se propone desarrollar un textil recubierto de una película muy delgada de metales u óxidos metálicos que disminuya o evite la transmisión de bacterias y virus. Cabe mencionar que cualquier medida que evite la propagación de bacterias y virus como el SARS-COV-2 (causante de la enfermedad coronavirus), será altamente útil en nuestro país y a nivel mundial. Además, si consideramos que el uso de cubrebocas continuará siendo una necesidad a lo largo de los siguientes meses para la población en general y permanente para los médicos y odontólogos se vuelve fundamental el desarrollo e investigación de nuevos materiales con capacidades antibacteriana y antiviral que puedan mejorar proteger al personal de salud y a los propios pacientes de diversas enfermedades infecciosas.

En este proyecto utilizaremos dos muestras de biopelícula subgingival (bacterias que están debajo de la encía), de dos de sus molares, y evaluaremos el efecto antibacteriano y antiviral de recubrimientos nanométricos metálicos y de óxidos metálicos depositado sobre textiles. Los resultados de este proyecto de investigación podrían ofrecer una posible alternativa a los cubrebocas convencionales, para desarrollar un cubrebocas de uso médico y dental y proteger al personal de la salud y a los pacientes de diversas enfermedades transmitidas por aerosoles (gotitas de saliva muy pequeñas generadas al hablar, toser o estornudar).

OBJETIVO DEL ESTUDIO: Evaluar el potencial antibacteriano y antiviral de nano-recubrimientos metálicos y de óxidos metálicos depositados sobre textiles utilizados en la fabricación de barreras de protección personal utilizadas por Odontólogos y Médicos para el control de infecciones.



PROCEDIMIENTOS: En caso de aceptar participar en el estudio se le realizará una evaluación clínica y periodontal para asegurarnos de que cuenta con los criterios de inclusión establecidos para participar en el estudio. Su participación en el estudio no implica que será sometido a ningún tratamiento diferente o adicional a aquellos tratamientos que su clínico tratante considere necesarios para su caso.

Su participación en este estudio de investigación requiere uno o más de los siguientes procedimientos:

- **La obtención de algunos de sus datos generales y médicos**, lo cual consistirá en el llenado de una historia clínica con preguntas que le serán leídas por el clínico responsable o alguno de los investigadores asociados.
- **La realización de una evaluación periodontal completa**, la cual consistirá en medir la profundidad de las pequeñas “bolsas” que se encuentran entre sus dientes y sus encías. Estas medidas serán tomadas con un instrumento especial llamado sonda que será introducido en dichas “bolsas” en 6 lugares diferentes alrededor de cada diente de su boca. Este es un procedimiento de rutina ampliamente utilizado en la práctica dental. Además de lo anterior, se le realizará una evaluación general de la salud de sus encías para saber si sangran, si están inflamadas o si están enrojecidas. Este procedimiento lo llevará a cabo el clínico responsable.
- **La toma de al menos dos muestras de biopelícula dental subgingival (biopelícula debajo de su encía)**, lo cual se realizará con un instrumento dental llamado cureta. La muestra que se tomará es la película blanquecina que se forma naturalmente sobre la superficie de sus dientes (biopelícula). Este procedimiento no es doloroso, aunque en algunas ocasiones puede ser un poco molesto. Cada muestra de biopelícula será colocada dentro de un tubo que será analizado posteriormente en el laboratorio.

Todos los procedimientos serán realizados en una sola visita que tendrá una duración máxima de 2 horas.

RIESGOS: De acuerdo con el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, en el Título Segundo (De los aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos) artículo 17, esta investigación se clasifica entre las Investigaciones con Riesgo Mínimo, ya que no se han reportado efectos adversos por realizar la toma de muestras de la biopelícula, es decir, no existe riesgo de infecciones, ya que todo el instrumental empleado estará totalmente estéril. La evaluación periodontal que se le realizará es la misma que realiza cualquier dentista para determinar la salud de sus encías. Las muestras de biopelícula se tomarán siguiendo procedimientos similares a los que se realizan durante una limpieza dental.

Todos los procedimientos serán realizados por profesionales calificados y con experiencia, utilizando procedimientos de seguridad aceptados para la práctica clínica. Todo el personal que le atenderá utilizará guantes desechables, bata y cubrebocas. Todos los materiales e instrumental que serán utilizados serán desechables y/o estarán esterilizados para su protección.

BENEFICIOS: Su participación no le proporcionará ningún beneficio inmediato ni directo. Sin embargo, gracias a su participación, se obtendrá información importante acerca del potencial de los nanorecubrimientos para disminuir el tiempo de vida de los microorganismos que habitan en su boca, cuando son transmitidos hacia otras superficies o personas, por medio de aerosoles. Esto podría ayudar en un futuro al mejor entendimiento de las enfermedades transmitidas por aerosoles y a la mejora de las barreras de protección como lo son los cubrebocas.

COMPENSACIONES: No existe ninguna compensación monetaria por su participación pero tampoco incurrirá en ningún gasto adicional a su tratamiento en la clínica.

CONFIDENCIALIDAD: Toda la información que sea obtenida tanto en sus historiales clínicos como en el análisis de sus muestras será mantenida en estricta confidencialidad. Así mismo, si cualquier publicación resultara de esta investigación, no se le identificará jamás por nombre.

RENUNCIA/RETIRO: Su participación en el estudio es totalmente voluntaria y puede decidir no participar o retirarse del estudio en cualquier momento, sin que esto represente algún perjuicio para su atención.



dental presente ni futura en las clínicas de la Facultad de Odontología de la UNAM. También debe entender que si cualquiera de los responsables de este estudio decidieran no incluirle en la investigación, pueden hacerlo si así lo creyeran conveniente.

ACLARACIONES: La decisión de su participación en el estudio es completamente voluntaria.

- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- No tendrá que hacer gasto alguno para participar en el estudio.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo al investigador principal.
- La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores, por lo cual su nombre será reemplazado por un código alfanumérico
- Usted no desarrollará ningún efecto adverso secundario debido a la participación en este estudio.
- La participación en este proyecto no implica que se le otorgue servicio dental gratuito o ningún tipo de apoyo gratuito para el tratamiento dental.

*Tome en cuenta que la muestra que nos proporcione puede ser utilizada para otros estudios realizados por el grupo de investigación a cargo.

- Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la **Carta de Consentimiento Informado** anexa a este documento.

En caso de tener cualquier duda relacionada con el procedimiento de este estudio, usted puede comunicarse con las investigadoras responsables del estudio.

Dra. Argelia Almaguer Flores	Investigador principal	5591992911	aalmaguer@comunidad.unam.mx
Mtra. Lorena Reyes Carmona	Investigador asociado	5532111148	lorena_unam753@hotmail.com
C.D. Velia Mariana Pérez Bucio	Investigador asociado	5545685172	marianapb04@gmail.com

POR FAVOR CONSERVE ESTA HOJA



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

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

Recibí una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Nombre y Firma del paciente participante **Fecha**

Domicilio: _____

Teléfono: _____

Nombre y Firma del Testigo 1 **Fecha**

Relación con el participante: _____ Teléfono _____

Domicilio: _____

Nombre y Firma del Testigo 2 **Fecha**

Relación con el participante: _____ Teléfono _____

Domicilio: _____

Esta parte debe ser completada por el Investigador:

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

Firma del investigador

Fecha

Hoja para el Investigador



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

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

Recibí una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Nombre y Firma del paciente participante **Fecha**

Domicilio: _____

Teléfono: _____

Nombre y Firma del Testigo 1 **Fecha**

Relación con el participante: _____ Teléfono _____

Domicilio: _____

Nombre y Firma del Testigo 2 **Fecha**

Relación con el participante: _____ Teléfono _____

Domicilio: _____

Esta parte debe ser completada por el Investigador:

He explicado al Sr(a) _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador

Fecha

Hoja para el paciente

Fecha: _____
 Nombre del clínico: _____
 Nombre del apuntador: _____

DATOS DEL PACIENTE

Nombre del paciente: _____ No. Expediente: _____
Apellido Paterno Apellido Materno Nombre(s)

Edad: _____ Fecha de nacimiento: _____ Sexo: 'Masculino ?Femenino
día/mes/año

Dirección: _____
Calle No. Exterior No. Interior Colonia

_____ Delegación/Municipio Estado C.P.

Teléfonos: Casa: _____ Trabajo: _____ Celular: _____
 Correo electrónico: _____

DATOS MÉDICOS

Padecimiento actual: _____
 Medicamentos utilizados en los últimos 2 meses:

Nombre	Dosis	Frecuencia	Última toma

Intervenciones quirúrgicas: 'Sí ?No Cuales: _____ Alergias: 'Sí ?No Cuales: _____
 Embarazo o lactancia: 'Sí ?No Tabaquismo: 'Sí ?No No. de cigarros al día: _____
 Si fue fumador ¿hace cuánto dejó de fumar?: _____

DATOS ODONTOLÓGICOS

Profilaxis: Sí No Fecha: _____
 Tratamiento periodontal: Sí No Tipo de Tx: _____ Fecha: _____
 Otro tipo de tratamiento Sí No Tipo de Tx: _____ Fecha: _____

<i>Tachar los dientes faltantes</i>	Cuadrante derecho							Cuadrante izquierdo						
Superior	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
Inferior	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

TABLAS.

Tabla 1. Criterios de selección de la población de estudio.

INCLUSIÓN	EXCLUSIÓN	ELIMINACIÓN
<ul style="list-style-type: none">• Diagnóstico de Periodontitis estadio III o IV, de acuerdo con la "Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions" [10].• Sin tratamiento periodontal, excepto profilaxis.• Sin compromiso sistémico.• Tener presente alguno de los primeros molares con profundidad al sondaje de ≥ 5 mm.	<ul style="list-style-type: none">• Embarazo o lactancia.• Utilización de antibióticos (sistémico/local), o clorhexidina (3 meses previos).• Afección sistémica que pudiera influir sobre el curso o severidad de la enfermedad (diabetes, VIH/SIDA, hemofilia, enfermedades autoinmunes e infecciosas).• Fumador actual (consumo regular de 3 cigarros o más a la semana) o que hubiera dejado de fumar en los 3 meses previos a su evaluación para el estudio.	<ul style="list-style-type: none">• Fue eliminado del estudio cualquier paciente que al momento de la examinación clínica o de la toma de las muestras ya no desee participar en el estudio o que se detecte que no cumple con los criterios de inclusión.

Tabla 2. Características de la población de estudio.

	Media \pm EEM	Rango
Edad (años)	56.6 \pm 5.46	39 - 73
Número de dientes perdidos	4 \pm 1.89	2 - 7
Género (% mujeres)	80	
Profundidad de bolsa promedio (mm)	3.32 \pm 0.17	2.8 - 3.8
Nivel de inserción promedio (mm)	2.28 \pm 0.21	1.6 - 2.8
Profundidad de bolsa promedio de molares muestreados.	5.1 \pm 0.28	3.8 - 6.6
Niveles de inserción promedio de molares muestreados	6.06 \pm 0.32	2.5 - 7.5
% de sitios con:		
biopelícula	38 \pm 9.2	14.2 - 66.7
enrojecimiento gingival	4.8 \pm 1.6	1.2 - 9.5
sangrado al sondeo	50.1 \pm 7.7	31.5 - 70.8
supuración	3 \pm 1.5	0 - 8.3