

Estandarización de los métodos de PCR para la identificación de bacterias del complejo rojo y naranja en sujetos con aparatología de ortodoncia.

Juan Luis Cota-quintero^{a*}, Elsa Maribel Aguilar-Medina^b, Rosalio Ramos-Payan^b, Geovanni Romero-Quintana^b, Mercedes Bermudes-Cortes^b.

^a Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, México.

^b Facultad de ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, México.

* luish_naproxeno@hotmail.com

Palabras clave: estandarización, PCR, biopelícula, complejos bacterianos.

Introducción

El periodonto es un conjunto de tejidos que se conforma por 4 componentes de origen mesenquimatoso: ligamento periodontal (LP), tejido gingival, cemento, y hueso alveolar, y tienen la función de dar soporte a los órganos dentales (OD).¹⁻² Para el inicio y desarrollo de la enfermedad periodontal, es necesario una proliferación de bacterias sobre los OD y tejidos blandos que desembocará en una respuesta inmunológica, inflamación y destrucción de los tejidos de soporte del OD. Durante los tratamientos ortodónticos es común el desarrollo de enfermedad periodontal como producto de la acumulación de un sustrato que se adhiere a los aditamentos ortodónticos y que favorece el crecimiento y proliferación de bacterias, sustrato conocido anteriormente como placa dentobacteriana y actualmente como biopelícula.²

Fueron las técnicas de hibridación de ADN de muestras de la biopelícula las que evidenciaron la participación de los agentes patógenos como factores etiológicos, además de que se logró demostrar la existencia de diferentes complejos subgingivales en la biopelícula, mismos que son diferentes entre sitios sanos y enfermos a nivel génico, así como transcripcional y metabólico. Se agrupan a las bacterias, según su afinidad e interacción biológica en complejos: rojo, naranja, amarillo, verde, azul y púrpura.³⁻⁴

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) diseñada por Kary Mullis en 1985 es una técnica que hace posible amplificar en poco tiempo muestras pequeñas de DNA, facilitando de este modo su análisis. Se inicia con un fragmento de DNA del tamaño de un gen que es de interés para el investigador y tiene la propiedad de formar miles de millones de copias entre 2 y 4 horas dependiendo del tipo de gen que se amplifica.⁵

El objetivo de este estudio es lograr la estandarización de la técnica de PCR para la identificación de las bacterias de complejo rojo y naranja a partir de muestras de biopelículas de sujetos con aparatología ortodóntica.

Metodología

Estudio de tipo Exploratorio. Se llevo a cabo la estandarización de la técnica de PCR para la identificación de las bacterias: *P. gingivalis* (198pb), *T. forsythia* (641pb), *T. denticola* (316pb) perteneciente al complejo rojo y *F. nucleatum* (408pb), *P. intermedia* (576pb) correspondientes al complejo naranja con los siguientes iniciadores específicos. Tabla 1.

Tabla 1.

Iniciadores específicos	Bacterias
FPg 5'-TG TAGATGACTGATGGTGA AAAACC-3'	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
RPg 5'-ACGTCATCCCCACCTTCCTC-3'	

FTf 5'-GCGTATGTAACCTGCCCGCA-3'	<i>Tannerella forsythia</i>
RTf 5'-TGCTTCAGTGTCAGTTATACCT-3'	
FTd 5'-TAATACCGAATGTGCTCATTACAT-3'	<i>Treponema denticola</i>
RTd 5'-TCAAAGAAGCATTCCCTCTTCTTCTTA-3'	
FFn 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
RFn 5'-GTCATCGTGCACACAGAATTGCTG-3'	
FPI 5'-TTTGTGGGGAGTAAAGCGGG-3'	<i>Prevotella intermedia</i>
RPI 5'-TCAACATCTCTGTATCCTGCGT-3'	

Iniciadores específicos. Laboratorio de inmunología FCQB-UAS.

A partir de muestras de biopelícula adyacente a la aparatología fija de ortodoncia se conformó un pool que se almacena a temperatura de -80°C hasta el momento de su procesamiento.

Resultados y discusión

Se realizó extracción de ADN y posteriormente la técnica de PCR para la detención de las bacterias.

Para la estandarización se inició con el protocolo de extracción de ADN del pool y posteriormente la técnica de PCR donde se logró la estandarización para la detección de los amplicones correspondientes para *T. denticola* (316 pb), *F. nucleatum* (408 pb), *P. intermedia* (576 pb).

Como trabajo posterior se llevará a cabo un estudio de tipo exploratorio, descriptivo, observacional, comparativo y transversal cuyo objetivo será determinar la relación entre la presencia de bacterias del complejo rojo y naranja de pacientes con aparatología fija de ortodoncia de ligado convencional y autoligado.

Conclusión

Se logró la estandarización de 1 bacteria, *T. denticola* (316 pb) del complejo rojo y 2 del complejo naranja *F. nucleatum* (408 pb), *P. intermedia* (576 pb).

Referencias

- Nunez, J., Vignoletti, F., Caffesse, R. G., & Sanz, M.. *Periodontol* 2000,2019, 79, 107-116.
- Llama-Palacios, A., Potupa, O., Sanchez, M. C., Figuero, E., Herrera, D., & Sanz, M.. *J Proteome Res*, 2017, 16, 3158-3167.
- Al-hebshi, N. N., Al-Alimi, A., Taiyeb-Ali, T., & Jaafar, N.. *J Periodontal Res*, 2015 50, 320-329.
- Velsko, I. M., & Shaddox, L. M. *BMC Microbiol*, 2018, 18, 70.
- Voet, D., Voet, J.G., & Pratt. C. W. *Fundamentos de bioquímica*; Armed Editora, Porto Alegre, 2016.