

**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE ODONTOLOGIA**

TEMA:

**“Detección de SARS-CoV-2 en saliva y líquido crevicular de pacientes
de la Clínica Odontológica (Semestre B-2022)”**

AUTOR:

Barreto Rivas Ana Margarita

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de
ODONTÓLOGA**

TUTOR:

Biol. García Rodríguez Lindsay Karen

Guayaquil, Ecuador

24 de febrero del 2023



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE ODONTOLOGIA

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente trabajo de titulación, fue realizado en su totalidad por **Barreto Rivas Ana Margarita**, como requerimiento para la obtención del título de **Odontóloga**.

TUTOR (A)

f. _____
Biol. García Rodríguez Lindsay Karen

DIRECTOR DE LA CARRERA

f. _____
Dra. Bermúdez Velázquez Andrea Cecilia

Guayaquil, a los 24 del mes de febrero del año 2023



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE ODONTOLOGIA

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, **Barreto Rivas Ana Margarita**

DECLARO QUE:

El Trabajo de Titulación, “**Detección de SARS-CoV-2 en saliva y líquido crevicular de pacientes de la Clínica Odontológica (Semestre B-2022)**” previo a la obtención del título de **Odontóloga**, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Guayaquil, a los 24 del mes de febrero del año 2023

EL AUTOR (A)

f. _____
Barreto Rivas Ana Margarita



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE ODONTOLOGIA

AUTORIZACIÓN

Yo, **Barreto Rivas Ana Margarita**

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la **publicación** en la biblioteca de la institución del Trabajo de Titulación, “**Detección de SARS-CoV-2 en saliva y líquido crevicular de pacientes de la Clínica Odontológica (Semestre B-2022)**”, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

Guayaquil, a los 24 del mes de febrero del año 2023

EL (LA) AUTOR(A):

f. _____
Barreto Rivas Ana Margarita

REPORTE URKUND

Document Information

Analyzed document	Articulo - Barreto Rivas Ana.docx (D157844791)
Submitted	2023-02-05 04:37:00
Submitted by	
Submitter email	ana.barreto@cu.ucsg.edu.ec
Similarity	0%
Analysis address	lindsay.garcia.ucsg@analysis.orkund.com

Sources included in the report



Entire Document

Detección de SARS-CoV-2 en saliva y líquido crevicular de pacientes de la Clínica Odontológica.
SARS-CoV-2 Detection in saliva and gingival crevicular fluid in patients of the dental clinic.
Barreto Rivas, Ana Margarita¹, García Rodríguez, Lindsay Karen²
Estudiante de Odontología de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Bióloga molecular, Docente de Odontología de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

AGRADECIMIENTOS

“He peleado la buena batalla, he acabado la carrera, he guardado la fe.”

2 Timoteo 4:7.

A Dios, quien me ha dado sabiduría y fortaleza en cada paso de mi vida.

A mi abuelita Ana Rón, el motor de mi vida, la musa de mi inspiración y la mujer más fuerte que conozco, quién ha dado sus mayores sacrificios por mí y nunca me ha negado nada en la vida; ten la certeza que sembraste en buen terreno mami Anita. A mi mamá Mónica Rivas, mi leal e incondicional compañera, la que no permite que me derrumbe, que me recuerda siempre que trajo al mundo a una mujer fuerte y capaz de todo, que no le importa acompañarme de claro en claro, e incluso aprender algo nuevo solo por ayudarme; gracias mamá.

A mi papá Franklin Barreto y a mi hermano Martín Martínez Rivas, que con palabras de aliento y compañía siempre estuvieron presentes dándome fuerzas. A mis mascotas: Tito†, Naranjin† y Blacky†; por su compañía en las largas madrugadas y aún más durante la virtualidad, amé cada momento que la vida nos regaló. Oso, Tigretón y Grey: por su compañía en este largo camino y por poder disfrutarlos aún a mi lado.

A mi Sra Luz†, que donde quiera que se encuentre, espero este orgullosa de la mujer en que me estoy convirtiendo.

A Johana Cortez, por depositar su confianza en mí y haber sido mi primera paciente cuando empecé mis prácticas después de pandemia, por su paciencia, constancia y puntualidad durante 2 semestres consecutivos mientras esperaba su tratamiento. A mi tía Blanca Rivas, por su paciencia y predisposición para esperar su tratamiento por 2 semestres, por entender los días buenos y malos que se pasan en las clínicas.

Al Dr Gustavo García, quién desde el primer día me brindó su apoyo y a lo largo de estos años no ha dejado de creer en mí y apoyarme en toda idea por más cuerda que sonase, quién ha sabido guiarme y aconsejarme como lo hace un padre, que me recuerda que nunca debo limitarme, y quién me ayudó a explotar mi potencial y así ganarme el mérito de ser llamada una hija, una más de las células T, por demostrarme que un líder es quién conoce, sigue y enseña el camino, ¡Eternas gracias Dr!.

A mi tutora de tesis, Dra Lindsay García, por toda su entrega y guía, por la confianza brindada, por las enseñanzas, y por haber sido paciente conmigo desde el inicio hasta el final de este estudio, ya que con sus directrices hemos podido lograr con éxito el objetivo planteado, ¡Muchas gracias Dra!.

Al Dr Juan Carlos Ruiz, director del laboratorio CEDIAGMOL de la ciudad de Guayaquil, por hacer que sea posible realizar las pruebas para este estudio.

A la Dra Geoconda Luzardo, por toda su paciencia y cariño, por saber corregirme cuando fue necesario, por estar siempre pendiente como lo hace una madre y brindarme su apoyo

en momentos difíciles, y sobre todo, por aportar con su granito de arena en mi proyecto.

A la Dra Anna Paula García, por validar y apoyar mis ideas durante Clínica Integral I y II, por ayudarme a salvar lo que parecía insalvable y siempre con el tiempo en contra y por cada consejo brindado.

A la Dra Adriana Amado, por toda su dedicación, cariño, paciencia y enseñanza durante mis semestres de Itinerario, por nunca dejarme sola en mis primeros pasos durante Clínica Integral del Niño, por siempre recibirme con los brazos abiertos y estar dispuesta a resolver mis dudas en cualquier momento, porque sus conocimientos impartidos me ayudaron a explotar mi potencial en Ortodoncia, por todos los consejos y palabras de aliento.

A la Dra Michelle Devetak, por creer en mí apenas me conoció en mi último semestre, por darme ánimo, guiarme y corregirme, por enseñarme que no siempre hay días buenos pero que con cariño, una buena actitud y un trato correcto podemos ganarnos la confianza de nuestros pacientitos, por inspirarme a ver la Odontopediatría desde otra perspectiva, y por toda la calma, amor y paciencia que transmitió con cada paciente que llevé.

Y a todos los buenos docentes que tuve, sobre todo a los que me enseñaron a defender y luchar por mis ideales, a los que con sus exigencias forjaron mi carácter, y a quienes con su ejemplo de guía, constancia y perseverancia formaron profesionales de bien.

A la Ing Gina Cedeño, por su cariño y apoyo desde mis primeros semestres, de quién siempre recibí ánimo y motivación para ser mejor.

A mis amigos, ahora colegas y futuros colegas que tienen un espacio en mi corazón: Kevin Gordillo, María Yilda Tapuyo, Dayanara Pástenes, Samantha Párraga, Kevin Vaca, Lisbeth García, Daniela Zambrano, Pamela Coloma, Iskra Bermúdez, María Mercedes Cevallos, Lester Martínez, Dayana Lara, Renato Arana, Alejandro Llerena, Gabriel Cedeño, Jean Mariño, Gian Perero, Jhordy Calva; por cada risa y lágrimas compartidas que hicieron de esta travesía algo inolvidable y que el equipaje de este viaje sea más liviano, porque sólo nosotros sabemos que no es posible sacar la carrera adelante sin tener un apoyo incondicional sobre todo en los días malos; esperando que todos alcancemos nuestros más grandes sueños, y que en un futuro la vida nos permita coincidir profesionalmente, los quiero.

A todos mis pacientes que confiaron en mí y en mis habilidades.

¡Que los sueños nunca mueran, y que las ideas sigan conectando!

Con amor, Anita.

DEDICATORIA

A mi abuelita Anita, el pilar fundamental de mi vida.

A mi mamá Mónica, mi mejor amiga.

A mi hermano Martín, mi mejor compañía y preparador de bocadillos nocturnos en las
madrugadas de desvelo.

A Jeremías, que le devolvió luz a mi vida en el momento exacto, espero que la vida me
permita ser tu mejor tía.

A Oso, mi amuleto de la buena suerte, empezamos y terminamos juntos este camino de 5
años.

Al Dr Gustavo García, por su apoyo incondicional desde el día uno y no bajarse del
barco.

Y a la Ana del futuro, para que al mirar atrás no se limite, que siga soñando en grande y
solo tome impulso para lograr más cosas en la vida.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE ODONTOLOGIA**

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

f. _____

Dra. Bermúdez Velázquez Andrea Cecilia
DECANO O DIRECTOR DE CARRERA

f. _____

Dra. Ocampo Poma Estefanía del Rocío
COORDINADOR DEL ÁREA O DOCENTE DE LA CARRERA

f. _____

Dra. Moncayo Jacome Gilda Fabiola
OPONENTE



**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE ODONTOLOGÍA**

CALIFICACIÓN

TUTOR (A)

**f. _____
Biol. García Rodríguez Lindsay Karen**

Detección de SARS-CoV-2 en saliva y líquido crevicular de pacientes de la Clínica Odontológica.

SARS-CoV-2 Detection in saliva and gingival crevicular fluid in patients of the dental clinic.

Barreto Rivas, Ana Margarita¹, García Rodríguez, Lindsay Karen²

Estudiante de Odontología de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.
Bióloga molecular, Docente de Odontología de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

Resumen

Antecedentes: La cavidad oral ha sido definida como uno de los puntos de entrada más importantes del virus; su ubicación en confluencia con el tracto respiratorio, así como el drenaje de saliva, la predispone a ser un foco de gran interés en lo que respecta al SARS-CoV-2. Las bacterias orales, los periodontopatógenos y, en general, la enfermedad periodontal se han asociado con afecciones respiratorias. El entorno odontológico está en constante exposición por el contacto directo con la cavidad oral y sus fluidos. Objetivo: Detectar el SARS-CoV-2 en saliva y líquido crevicular de pacientes de la clínica odontológica. Materiales y métodos: Se escogieron 50 pacientes que acudieron a la clínica Odontológica en un periodo de tiempo desde Noviembre 2022 a Enero 2023, en rango de edad entre 16 a 75 años, con diagnósticos de gingivitis (40%) y periodontitis (60%). Se recolectaron las muestras de saliva y líquido crevicular (GCF) para ser sometidas a extracción y purificación de ácidos nucleicos virales que fueron sometidos a amplificación mediante reacción en cadena de polimerasa - transcripción reversa (RT-PCR). Resultados: La frecuencia de SARS-CoV-2 en las muestras de GCF y saliva son iguales en valores de 55.6% para casos de Gingivitis, y 44.4% para casos de Periodontitis. Conclusiones: Se comprobó que tanto el GCF y la saliva son fluidos que permiten el diagnóstico no invasivo de SARS-CoV-2, se necesitara de estudios de mayor tamaño con la finalidad de determinar si las muestras de GCF resultan equivalentes a las de saliva para el diagnóstico de SARS-CoV-2.

Palabras clave: SARS-CoV-2, Saliva, líquido crevicular, detección, diagnósticos, RT-PCR.

Abstract

Background: The oral cavity has been defined as one of the most important entrance points for the virus; its location in confluence with the respiratory tract, as well as saliva drainage, predisposes it to be a focus of great interest in regards to SARS-CoV-2. Oral bacteria, periodontal pathogens and, in general, periodontal disease have been associated with respiratory conditions. The dental environment is in constantly exposition due to direct contact with the oral cavity and its fluids. Aim: Detect SARS-CoV-2 in saliva and crevicular fluid of patients at the dental clinic. Methods: 50 patients who attended to Dental Clinic in a period of time from November 2022 to January 2023, in range of age between 16 to 75 years old, with diagnoses of gingivitis (40%) and periodontitis (60%) were chosen. Saliva and crevicular fluid samples were collected to be subjected to extraction and purification of viral nucleic acids that were subjected to amplification by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Results: The frequency of SARS-CoV-2 in the crevicular fluid and saliva samples are equal in values of 55.6% for Gingivitis cases, and 44.4% for Periodontitis cases. Conclusion: It was verified that both crevicular fluid and saliva are fluids that allow the non-invasive diagnosis of SARS-CoV-2, there will be needed more studies in order to determine if GCF samples are equivalent to saliva samples for the diagnosis of SARS-CoV-2.

Keywords: SARS-CoV-2, Saliva, gingival crevicular fluid, detection, diagnoses, RT-PCR.

INTRODUCCIÓN

Los coronavirus pertenecen a la familia *Coronaviridae*, del orden *Nidovirales*, y su genoma comprende ARN grande, monocatenario y de cadena positiva.¹ El SARS-CoV-2 es el séptimo miembro de la familia de los coronavirus que afecta a los humanos; tiene una estructura simple con pocas proteínas. Hay 4 proteínas estructurales principales: la proteína de la envoltura (E), la proteína espiga (S), la proteína transmembrana (M) y la nucleoproteína (N). Las proteínas E, S y M facilitan la entrada del virus en las células huésped, el ensamblaje del virión y la patogénesis viral. El genoma viral está en estrecha asociación con la proteína N y también ayuda a la proteína E en el ensamblaje del virión.²⁻⁴

En la actualidad se han identificado dos modos de transmisión del SARS-CoV-2: transmisión directa e indirecta. La transmisión directa incluye el contacto con los fluidos corporales de la persona infectada, las gotitas respiratorias o salivales y otros fluidos corporales como las heces, la orina, el semen y las lágrimas.^{2, 5-6}

La cavidad oral ha sido definida como uno de los puntos de entrada más

importantes del virus; su ubicación en confluencia con el tracto respiratorio, así como el drenaje de saliva, la predispone a ser un foco de gran interés en lo que respecta al SARS-CoV-2. Las bacterias orales, los periodontopatógenos y, en general, la enfermedad periodontal se han asociado con afecciones respiratorias y resultados adversos de las mismas, actuando particularmente en un mecanismo sinérgico junto con los virus.⁷⁻¹⁰

El líquido crevicular gingival (GCF) es un exudado de suero que drena en el surco gingival después de atravesar el tejido conectivo y lleva en su interior componentes moleculares y celulares de importancia como anticuerpos, componentes del sistema del complemento, células plasmáticas y neutrófilos. El flujo de este líquido crevicular gingival (GCF) es relativamente lento en sitios sanos, pero aumenta un 147% en gingivitis y hasta 30 veces en enfermedad periodontal avanzada, como parte de la respuesta inflamatoria a la acumulación de placa alrededor del margen gingival.¹¹⁻¹² La recolección y, a su vez, el análisis de GCF han sido durante mucho tiempo un enfoque reconocido e

incluso popular para estudiar las condiciones del periodonto.^{7, 11-13.}

Se ha demostrado que el SARS-CoV-2 puede estar presente en la saliva mediante tres mecanismos; primero, a través del intercambio de fluidos provenientes de las vías aéreas superiores e inferiores (llamadas también “gotas de Pflugge”).⁷ Segundo, mediante el suero sanguíneo que se libera al GCF y tercero por la presencia de infección en las glándulas salivales, en las que se descargan partículas virales a través del epitelio de los ductos.⁸

Actualmente en el país, de acuerdo a los datos epidemiológicos, durante éste último trimestre se han confirmado un promedio de 702,66 de casos positivos por día, sumado al número de muertes por día equivalentes a 0,74.¹⁴

El rendimiento del virus en la secreción salival es un hallazgo común para esta infección.⁷ La literatura indica que la saliva contiene una gran cantidad de virus y un extenso microbioma, lo que sugiere que las glándulas salivales son sitios de proliferación activa del virus.⁷ El personal de atención odontológica está incluido en la categoría de mayor riesgo de exposición al SARS-COV-2, por lo que es indispensable regirse a las nuevas medidas de protección y

bioseguridad, con el fin de reducir el riesgo de infección y transmisión viral.¹⁵⁻¹⁹

El objetivo principal de esta investigación es detectar el SARS-CoV-2 en saliva y líquido crevicular de pacientes de la clínica odontológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

La selección de pacientes se llevó a cabo mediante los criterios de inclusión y exclusión de la muestra.

Criterios de inclusión: pacientes recientemente expuestos a personas con Covid (dentro de su círculo social), pacientes con enfermedad periodontal y expuestos a personas con Covid (dentro de su círculo social), pacientes con fiebre y malestar reciente, pacientes no vacunados y vacunados con 1, 2, 3 o 4 dosis.

Criterios de exclusión: pacientes con diagnóstico de salud gingival.

Los pacientes consintieron por escrito el muestreo y desarrollo de la presente investigación.

El testado de las muestras se llevó a cabo en un laboratorio privado de la ciudad de Guayaquil.

Se escogieron 50 pacientes que acudieron a la clínica odontológica, en un periodo de tiempo que abarcó desde

el mes de Noviembre del 2022 hasta Enero del 2023.

La toma de muestra para GCF se realizó mediante el uso de paper points en las medidas #40 #45 #50, previamente esterilizados mediante luz ultravioleta e individualizados para cada paciente. (Fig 1)



Fig 1: Materiales utilizados para muestreo de GCF.



Fig 2: Materiales utilizados para muestreo de Saliva.

El sitio anatómico para la toma de la muestra se escogió en base al diagnóstico de cada paciente, especificando el diente con más sangrado para casos de Gingivitis y el diente con la bolsa periodontal más profunda para casos de Periodontitis.

Se introdujeron los conos de papel en tres sitios del diente más afectado, uno por uno durante 15 segundos para luego ser llevados en un medio de transporte estéril. (Tubo de polipropileno de 2ml)

Así mismo, para la recolección de muestras de saliva. Se le solicitó al paciente llenar con la mayor cantidad de saliva que pueda producir al momento de la muestra y depositarla en un tubo estéril de polipropileno de 15 ml con 2ml de solución preservada. (Fig 2)

Las muestras se conservaron a -80 grados hasta su extracción de ARN.

Las muestras de saliva y fluido crevicular fueron sometidas a extracción y purificación de ácidos nucleicos virales, mediante el uso de columnas de sílice. Los purificados de ácidos nucleicos obtenidos fueron sometidos a amplificación mediante reacción en cadena de polimerasa - transcripción reversa (RT-PCR) en tiempo real, la misma que se fundamentó en la utilización de cebadores específicos de las regiones N y ORF1a1b del genoma viral.

Para el protocolo de RT-PCR se incluyeron muestras pareadas (saliva y fluido crevicular) de todos y cada uno de los casos registrados.

Los datos obtenidos se organizaron en una tabla de Excel incluyendo número de muestra, datos personales del paciente, diagnóstico y sitio de muestra, profundidad de bolsa para casos de periodontitis, diente con más sangrado al sondaje para casos de gingivitis, y las preguntas del formulario realizado en el consentimiento informado para cada paciente.

Se analizaron los resultados utilizando Microsoft office Excel, programa de

estadística IBM SPSS versión 26, calculadora Fisher: Easy Fisher test calculator)

RESULTADOS

Se escogieron 50 pacientes que acudieron a la clínica Odontológica en un rango de edad entre 16 a 75 años, de los cuales 27 corresponden a hombres (54%) y 23 mujeres (46%); con diagnósticos de gingivitis (40%) y periodontitis (60%) (Fig 3) que cumplían con los criterios de inclusión de la muestra.

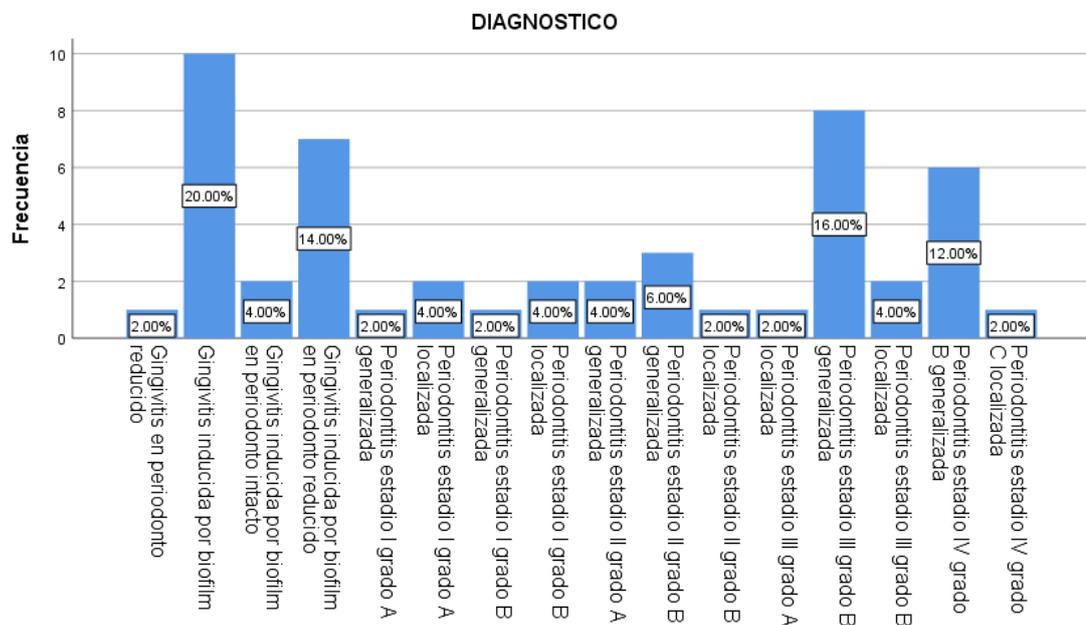


Fig 3: Frecuencia de diagnósticos de pacientes muestreados en el estudio.

De un total de 100 muestras analizadas (50 casos con muestras pareadas para saliva y fluido crevicular cada uno), 9

(18%) se detectaron para SARS-CoV-2. (Figura 4)



Fig 4: Resultados de RT-PCR detectados y no detectados para SARS-CoV-2 en muestras saliva y GCF.

La comparación de la frecuencia de acuerdo a las características de la muestra sugiere que no existe diferencia significativa para la detección de SARS CoV-2 entre la saliva y el fluido crevicular como métodos de diagnósticos, independientemente de las características del grupo escogido. La frecuencia de SARS-CoV-2 en las

muestras de fluido crevicular y saliva son iguales en valores de 55.6% para casos de Gingivitis, y 44.4% para casos de Periodontitis. Como nuestro P-valor es de $0.293 > 0.05$ aceptamos la hipótesis nula, es decir que las tres variables en mención: diagnósticos y detección de SARS-CoV-2 en GCF, detección de SARS-CoV-2 en saliva son independientes y no están relacionadas entre sí. (Tabla 1)

Tabla 1: Prueba de Chi-cuadrado para saliva y GCF

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	1.107	1	.293		
Corrección de continuidad	.457	1	.499		
Razón de verosimilitud	1.085	1	.297		
Prueba exacta de Fisher				.454	.247
N de casos válidos	50				

Así mismo, la frecuencia de SARS-CoV-2 en las muestras de saliva es de 55.6% para casos de Gingivitis (De los 9 casos detectados), y 44.4% para casos de Periodontitis. (De los 9 casos detectados).

Para el estudio se consideró como profundidades significativas desde mínimo 3 mm para casos de gingivitis,

mientras que para los casos de periodontitis con sus respectivos estadios I- IV, grados A, B y C, patrón generalizada o localizada, se estableció como mínimo 4 mm, promedio de 5 mm y 6 mm, y como máximo de 7 mm. (Figura 5)

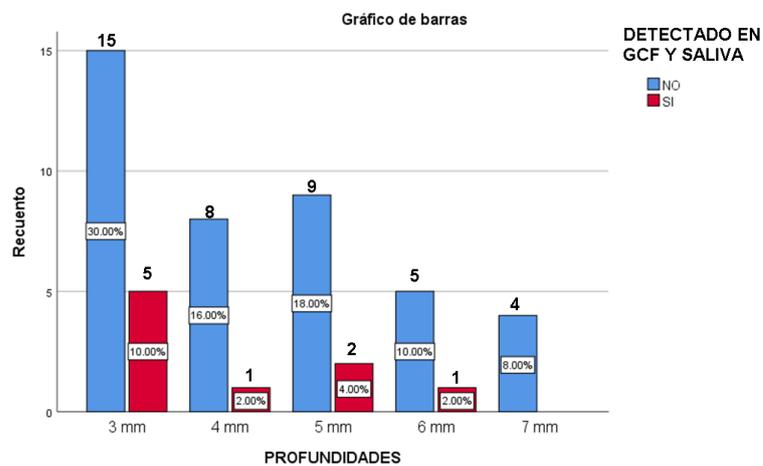


Fig 5: Profundidades de sondaje en casos detectados y no detectados para SARS-CoV-2

De acuerdo a los resultados de laboratorio, se detectó SARS-CoV-2 en 5 de 20 pacientes con mayor frecuencia en las muestras con diagnósticos de Gingivitis con profundidad de 3 mm, con un resultado positivo tanto para líquido crevicular como para saliva. Siendo equivalente a un total de 20 pacientes y 40 muestras pareadas (40%), dando así un resultado de 5 detectados (55.6%), mientras que los no detectados resultó equivalente a un total de 15 pacientes. Por otro lado, en los casos de periodontitis se detectó SARS-CoV-2 en 4 de 30 pacientes, equivalente a detectados (44.4%) de todas las profundidades de sondajes de acuerdo a sus diagnósticos, tuvo mayor relevancia 5 mm con 2 pacientes, y de 4 mm y 6 mm con 1 paciente respectivamente.

DISCUSIÓN

En nuestro entorno, la atención dental conlleva a riesgos elevados de infección por SARS-CoV-2 debido a la especificidad de los procedimientos, lo que implica un contacto cercano con los pacientes sumado a la exposición frecuente a saliva y otros fluidos de riesgo, y las posibles contaminaciones cruzadas en la atención entre cada paciente.¹⁹⁻²⁰ El líquido crevicular

gingival y la saliva, que son representativos del estado sistémico y tienen un historial comprobado de detección de virus y biomarcadores, constituyen una base lógica para evaluar la presencia del SARS-CoV-2.⁷ La evidencia sugiere que la cavidad oral no solo puede ser un sitio de manifestaciones clínicas de la infección por SARS-CoV-2, sino que también desempeña un papel en la entrada y transmisión del virus.²¹⁻²²

En cuanto al presente estudio, se detectó la presencia de SARS-CoV-2 en ambas técnicas de testado en 9 de 50 pacientes (18%). De modo similar, en el estudio de Gupta et al. (7), se evaluó a 33 pacientes con muestras de saliva y GCF, donde no encontraron asociación significativa de la presencia de enfermedad periodontal y la detección de SARS-CoV-2 en GCF y saliva, ya que se detectó SARS-CoV-2 en GCF en 21 de 33 pacientes, mientras que en saliva se detectó en 20 de 31 pacientes.⁷ Aquí es importante destacar los periodos de tiempo en que se realizaron las investigaciones, en el caso del estudio de Gupta et al. (7) en el mes de Julio del 2020 mientras que la presente investigación se realizó desde Noviembre 2022 a Enero 2023, así mismo, cabe destacar que actualmente contamos con nuevos

protocolos de bioseguridad previo a la atención del paciente, lo que disminuye el riesgo de infección.

La técnica aplicada en nuestra investigación para el testado de GCF mediante el uso de paper points, está sustentada en base al estudio de Angelov et al. (23), en cual originalmente se basa en el estudio de Hartroth et al. (24) en 1999, y el estudio actual de Banadian et al. (25), donde se explica y relaciona la técnica del uso de paper points, a diferencia del estudio de Gupta et al. (7), en el que usaron pipetas microcapilares de Hirschmann volumétricas calibradas y se transfirieron en un medio de transporte viral (tubos estériles)⁷, al igual que en la presente investigación.

Así mismo, respecto a saliva, en el estudio de Ediz et al. (26), sustentan el uso de recolección de saliva no estimulada en un recipiente estéril simplemente pidiéndole al paciente que escupa 3-4 ml, para luego ser sometidas a extracción de ARN viral, al igual que en nuestra investigación.²⁶ No obstante el estudio de Gupta et al. (7), sugiere la posibilidad de que ambas técnicas de testado tanto en saliva y GCF tienen su propósito para el diagnóstico.⁷

En el estudio de Hernández et al. (27), sugiere una hipótesis que vincula mediante las bolsas periodontales al SARS-CoV-2 con enfermedad periodontal, ya que las bolsas periodontales pueden ser un nicho para la infección por SARS-CoV-2, en el que el virus encuentra un ambiente favorable y adecuado para su replicación, incluso al estar en la cavidad oral puede mezclarse con la saliva y migrar sistémicamente, por lo tanto el estudio sugiere que las bolsas periodontales son un reservorio plausible de SARS-CoV-2.²⁷ Del mismo modo que nuestra investigación demostró que se detectó SARS-CoV-2 en 4 pacientes con diagnósticos de periodontitis y con bolsas periodontales de 4 mm a 6 mm que se registraron como la bolsa mas profunda. Al igual que en el estudio de Gupta et al. (7), la muestra de GCF se recolectó de la bolsa periodontal más profunda y se detectó SARS-CoV-2 en 21 de 33 pacientes.⁷

En cuanto a los tipos de lesiones, para la presente investigación se detectó en 5 casos con diagnósticos de gingivitis (55.6%) y 4 casos con diagnósticos de periodontitis (44.4%), comparado con el estudio de Marouf et al. (28), en el que hallaron que los pacientes con enfermedad periodontal tienen

marcadores en sangre que se relacionan con un peor resultado de la enfermedad, por lo que se establece que la periodontitis es un factor de riesgo en la severidad del SARS-CoV-2, es decir, existe una relación bidireccional, mas no una asociación directa.²⁸ En vista de ello, en el estudio de Larvin et al. (29), donde se evaluaron a 13253 pacientes, hubo 1.616 (10,5 %) casos confirmados de COVID-19 que presentaban encías sangrantes, dientes con movilidad, lo que sugiere que la carga bacteriana oral de personas con enfermedad periodontal puede influir en el pronóstico del SARS-CoV-2.²⁹ Por otro lado, en el estudio de Manzalawi et al. (30), sugieren que las enfermedades gingivales y periodontales son multifactoriales y atribuidas en su mayoría al biofilm dental lo que relaciona al SARS-CoV-2 como agravante de una mayor reacción inflamatoria y signos clínicos de gingivitis o periodontitis.³⁰

En relación con las implicaciones, las limitaciones del presente estudio incluyeron el bajo número de participantes positivos detectados dado que el universo consistía inicialmente en 333, nivel de confianza de 95%, la muestra debió ser 179 pacientes, pero por factores limitantes (factor

económico y tiempo) se escogieron 50 pacientes para tener 100 muestras pareadas.

CONCLUSIONES

La frecuencia de detección obtenida para SARS-CoV-2 sugiere la circulación del virus entre los pacientes testados sin sintomatología aparente.

No existen diferencias significativas en la detección de SARS CoV-2 en los pacientes testados al comparar el fluido crevicular con la saliva (Gold standar para el caso de muestras orales). No obstante, se comprobó que el líquido crevicular y la saliva son fluidos que permiten el diagnóstico no invasivo de SARS-CoV-2.

Se necesita de estudios de mayor tamaño y complejidad para justificar la utilización del fluido crevicular gingival y saliva como muestras idóneas para determinar su equivalencia en el diagnóstico y detección del SARS-CoV-2.

El presente trabajo abre la posibilidad a futuro de aplicar la misma estrategia para otros virus respiratorios, permitiendo utilizar el fluido crevicular y la saliva como muestras de referencias para determinar su circulación.

REFERENCIAS

1. Peng X, Xu X, Yuding L, Lei Ch, Xuedong Z, Biao R. Transmission routes of 2019-nCoV and controls in dental practice. *Int J Oral Sci.* 2020; 12: 9.
2. Sewvandini D, Ratnayake R. Oral mucosa, saliva, and COVID-19 infection in oral health care. *Front Med (Lausana).* 2021; 8; 656926.
3. Jamal A, Mozafarihashjin M, Coomes E, Powis J, Li A, Peterson A, et.al. Sensitivity of nasopharyngeal swabs and saliva for detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Clinical Infectious Diseases.* 2021; 72(6): 1064-6.
4. Sanchez A, Aparicio K, Miranda C, Castillo C, Arellano N. COVID-19: epidemiology, virology, and transmissibility. *Rev Eug Esp.* 2021; 15(3).
5. Falcon B. Oral cavity as a transmission source for SARS-COV-2. *AMC.* 2020; 24(6).
6. Hon J, Chik-yak C, Wing-shan R, Chan K, Chung V, Ngai I, et.al. Evaluating the use of posterior oropharyngeal saliva in a point-of-care assay for the detection of SARS-COV-2. *Emerg Microbes Infect.* 2020; 9(1).
7. Gupta S, Mohindra R, Sinsh M. SARS-CoV-2 Detection in gingival crevicular fluid. *Journal of dental research.* 2021; 100(2): 187-193.
8. Villegas I. La estomatología actual siguiendo la ruta del covid-19. *Anatomia Digital.* 2021; 4(1): 17-28.
9. Sanchez M, Toledo B, Zaita Y, Fimia R. SARS-CoV-2virus and periodontitis. *Paideia XXI.* 2021; 11(1): 247-254.
10. Lenartova M, Tesinska B, Janatova T, Hrebicek O, Mysak J, Janata J, et.al. The oral microbiome in periodontal health. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; 11.
11. Polymeri A, Van J, Buijs M, Zaura E, Wismeijer D, Loos B, et.al. Submucosal microbiome of peri-implant sites: A cross-sectional study. *J Clin Periodontol.* 2021; 48(9): 1228-1239.
12. Angelov N, Aprecio R, Kettering J, Lundgren T, Riggs M, Egelberg J. Recovery of putative pathogens from paper points sampling at different depths of periodontal lesions. *Clin Cosmet Investig Dent.* 2019; 1: 1-5.
13. Philip M, Martin M. *Oral Microbiology.* Fifth Edition.
14. Mathieu, E. *et al.* (2020) *Ecuador: Coronavirus pandemic country profile, Our World in Data.* Blavatnik School of Government at the University of Oxford. Available at: <https://ourworldindata.org/coronavirus/country/ecuador>
15. Guardado I, Bologna R, Zepeda J, Espinoza M, Molina N, Gonzalez R, et.al. Self-reported periodontal disease and its association with SARS-CoV-2 infection. *Int J Environ Res Public Health.* 2022; 19(16): 10306.
16. Gutierrez J, Avila L, Martinez M, Garza I, Zorrilla S, Gutierrez V, et.al. Oral lesions associated with COVID-19 and the participation of the buccal cavity as a key player for establishment of immunity against SARS-CoV-2. *Int J Environ Res Public Health.* 2022; 19(18): 11383.
17. Tan S, Allicock O, Katamba A, Carrington C, Wyllie A, Armstrong M. Saliva-based methods for SARS-CoV-2 testing in low-and middle-income countries. *Bull World Health Organ.* 2022; 100(12): 808-814.
18. Basso L, Chacun D, Sy K, Grosgeat B, Gritsch K. Periodontal diseases and COVID-19: A scoping review. *Eur J Dent.* 2021; 15(4): 768-775.
19. Dental collaboration group. The COVID-19 pandemic and its global effects on dental practice. An international survey. *J Dent.* 2021; 114.
20. Melià A, Calcumil P, Boin C, Carrasco R. Detection of COVID-19 (SARS-CoV-2) by saliva: A low-

- invasive diagnostic alternative. *Int J Odontostomat.* 2020; 14(3): 316-320.
21. Drozdziak A. Covid-19 and SARS-CoV-2 infection in periodontology: A narrative review. *J Periodontal Res.* 2022;
 22. Khurshid Z, Yahya F, Wasaani H. Human saliva: Non-invasive fluid for detecting novel coronavirus (2019-nCoV). *Int J Environ Res Public Health.* 2020; 17.
 23. Angelov N, Apreccio R, Kettering J, Lundgren T, Riggs M, Egelberg J. Recovery of putative pathogens from paper point sampling at different depths of periodontal lesions. *Clin Cosmet Investig Dent.* 2009; 1: 1-5.
 24. Hartroth B, Seyfahrt I, Conrads G. Sampling of periodontal pathogens by paper points: evaluation of basic parameters. *Oral Microbiol Immunol.* 1999; 14(5): 326-30.
 25. Banadian A, Ponce E, Rodriguez L, Bascuas T, Capo C, Battle A, et.al. Detection of periodontal pathogens in Uruguayan population with aggressive periodontitis using conventional and molecular methods. *Odontostomatologia.* 2018; 20(32).
 26. Ediz E, Ozgur D, Karamese M. Saliva samples for detection of SARS-CoV-2 in mildly symptomatic and asymptomatic patients. *J Med Virol.* 2021; 93(5): 2932-2937.
 27. Hernandez S, Aquino R. The potential role of periodontitis on the severity of COVID-19. A review. *Int J Odontostomat.* 2021; 15(2): 335-341.
 28. Marouf N, Cai W, Said K, Daas H, Diab H, Rao V, et.al. Association between periodontitis and severity of COVID-18 infection: A case-control study. *J Clin Periodontol.* 2021; 48(4).
 29. Larvin H, Wilmott S, Wu J, Kang J. The impact of periodontal disease on hospital admission and mortality during COVID-19 pandemic. *Front Med (Lausanne).* 2020; 7.
 30. Manzalawi R, Alhmamey K, Abdelrasoul M. Gingival bleeding associated with COVID-19 infection. *Clin Case Rep.* 2021; 9(1): 294-297.

ANEXOS

ANEXO 1: FORMULARIO DE REGISTRO Y CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE

SC SAL #

Nombres: _____

Edad: _____

Número de teléfono: _____

Diagnóstico: _____

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Guayaquil 14 de noviembre de 2022

Clínica Odontológica UCSG

Proyecto de titulación “Detección de SARS-CoV-2 en saliva y líquido crevicular de pacientes de la Clínica Odontológica (Semestre B-2022)”

Declaro ser mayor de edad y comprender, que se me pedirá contribuir, con una muestra de saliva y otra de fluido crevicular, las mismas que serán testadas para detección de SARS-COV-2.

Declaro comprender, que el objetivo de este trabajo de investigación, no es el de diagnosticar, pero si el de comparar ambas estrategias de obtención de la muestra.

Firma y cédula de identidad paciente Firma y cédula de identidad del investigador

Formulario:

1. ¿Ha tenido exposición reciente con personas positivas para Covid? SI NO

2. ¿Ha presentado fiebre y malestar reciente? SI NO

Fecha/ ¿hace cuánto tiempo?: _____

3. ¿Ha estado contagiado de COVID? SI NO

Fecha/ ¿hace cuánto tiempo?: _____

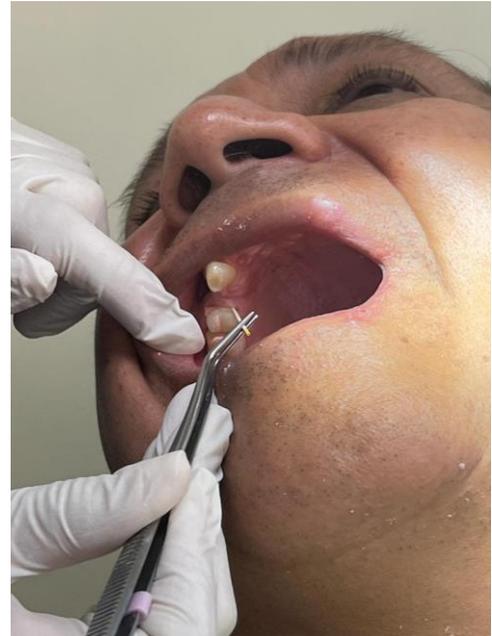
4. ¿Se ha vacunado contra el COVID? SI NO

5. ¿Cuántas dosis de la vacuna para COVID tiene actualmente? 0 1 2 3 4

ANEXO 2: FOTOS DE EVIDENCIA DE MUESTREO EN LA CLINICA ODONTOLOGICA



Img 1: Recolección de saliva en tubos estériles.



Img 2: Introducción de paper point #50



Img 3: Introducción de paper point #45



Img 4: Introducción de paper point #40



Img 5: Introducción de paper point #45



Img 6: Recolección de saliva en tubos estériles.



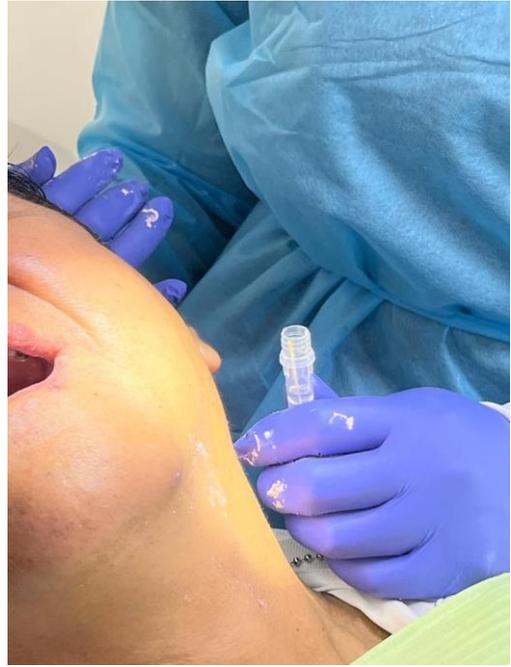
Img 7: Introducción de paper point #50



Img 8: Introducción de paper point



Img 9: Introducción de paper point #40



Img 10: Tubo de polipropileno estéril

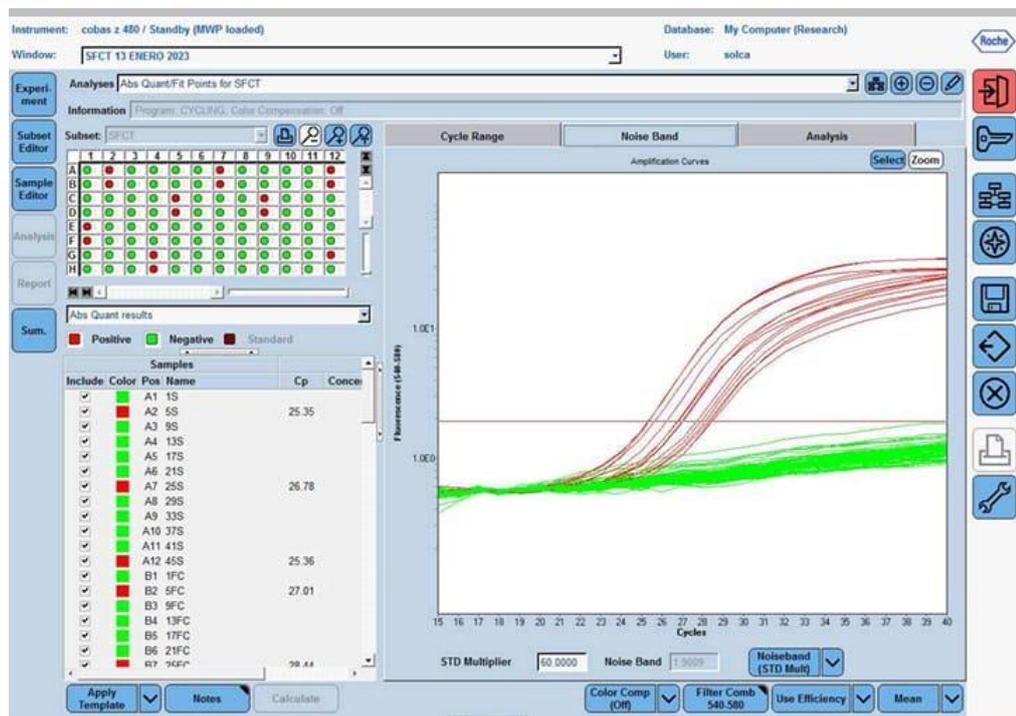


Img 11: Introducción de paper point

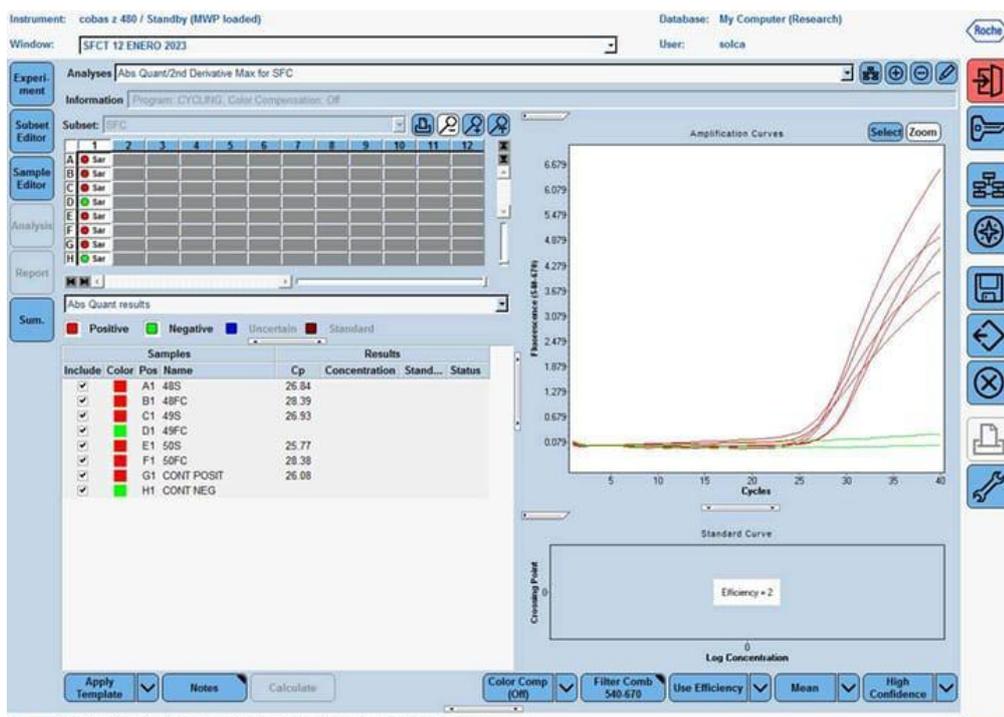


Img 12: Introducción de paper point

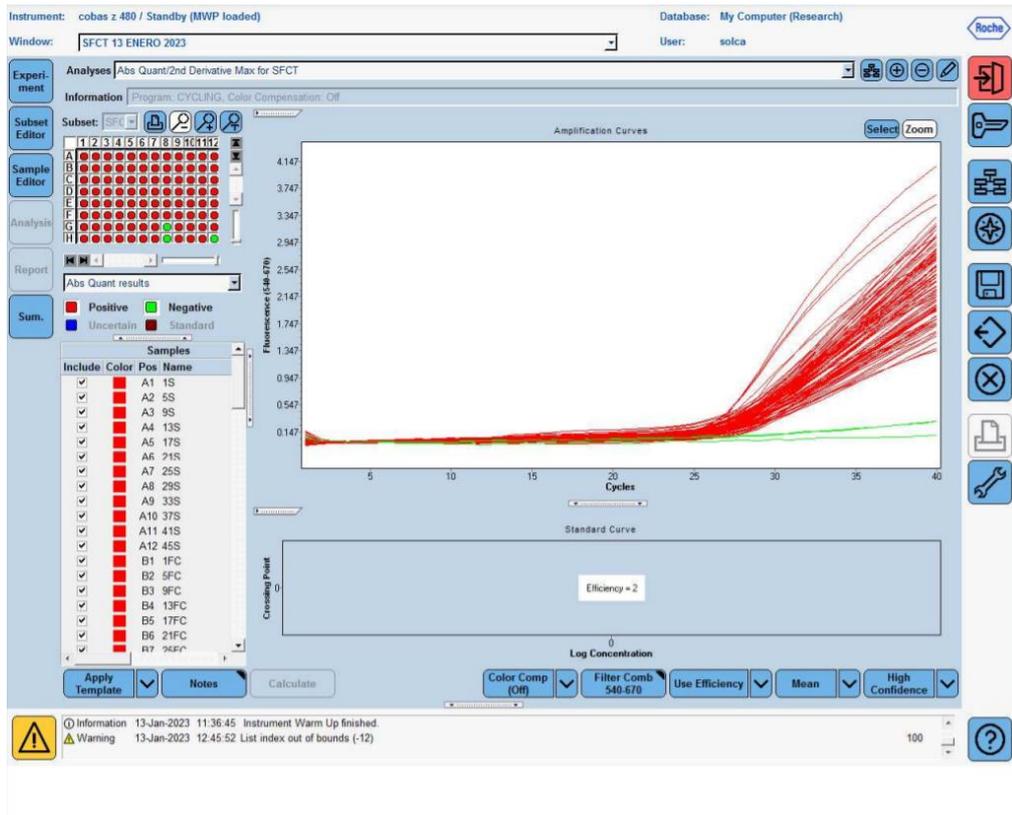
ANEXO 3: AMPLIFICACION POR RT-PCR DEL SARS-CoV-2 EN MUESTRAS DE SALIVA Y GCF.



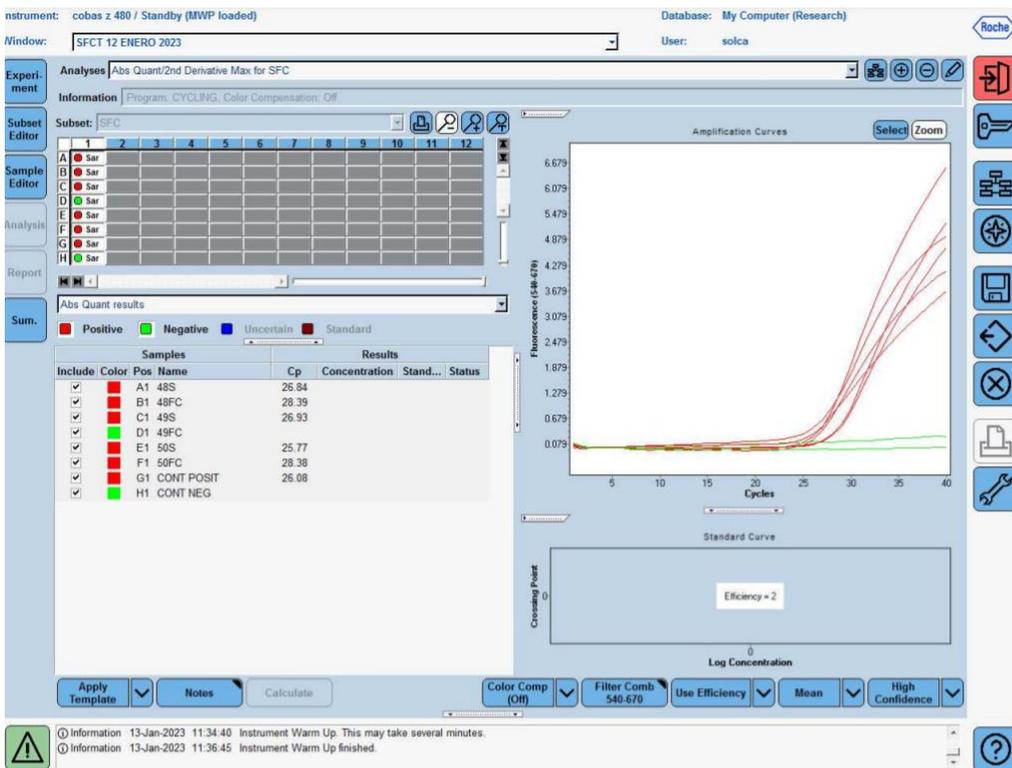
Img1: Curva de amplificación del gen N y ORF 1a1b del SARS-CoV-2 de las muestras 1 a 47 y sus respectivos controles.



Img 2: Curva de amplificación del gen N y ORF 1a1b del SARS-CoV-2 de las muestras 48 a 50 y sus respectivos controles.



Img 3: Curvas de amplificación del Fago MS2 (control interno) de las muestras 1-47.



Img 3: Curvas de amplificación del Fago MS2 (control interno) de las muestras 48-50.

ANEXO 4: TABLAS CRUZADAS

Tabla cruzada PROFUNDIDADES*DETECTADO EN SALIVA y GCF

			DETECTADO EN SALIVA Y GCF		
			NO	SI	Total
PROFUNDIDADES	3 mm	Recuento	15	5	20
		% dentro de DETECTADO EN SALIVA	36.6%	55.6%	40.0%
	4 mm	Recuento	8	1	9
		% dentro de DETECTADO EN SALIVA	19.5%	11.1%	18.0%
	5 mm	Recuento	9	2	11
		% dentro de DETECTADO EN SALIVA	22.0%	22.2%	22.0%
	6 mm	Recuento	5	1	6
		% dentro de DETECTADO EN SALIVA	12.2%	11.1%	12.0%
	7 mm	Recuento	4	0	4
		% dentro de DETECTADO EN SALIVA	9.8%	0.0%	8.0%
Total		Recuento	41	9	50
		% dentro de DETECTADO EN SALIVA	100.0%	100.0%	100.0%

Tabla cruzada DIAGNOSTICOS*DETECTADO EN SALIVA Y GCF

			DETECTADO EN SALIVA Y GCF		
			NO	SI	Total
DIAGNOSTICOS	Gingivitis	Recuento	15	5	20
		% dentro de DETECTADO EN SALIVA Y GCF	36.6%	55.6%	40.0%
	Periodontitis	Recuento	26	4	30
		% dentro de DETECTADO EN SALIVA Y GCF	63.4%	44.4%	60.0%
Total		Recuento	41	9	50
		% dentro de DETECTADO EN SALIVA Y GCF	100.0%	100.0%	100.0%

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **Barreto Rivas Ana Margarita**, con C.C: # 0951656404 autor/a del trabajo de titulación: “**Detección de SARS-CoV-2 en saliva y líquido crevicular de pacientes de la Clínica Odontológica (Semestre B-2022)**”, previo a la obtención del título de **Odontóloga** en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de titulación, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, **24 de febrero de 2023**

f. 

Nombres: **Barreto Rivas Ana Margarita**

C.C: **0951656404**



REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA Y SUBTEMA:	"Detección de SARS-CoV-2 en saliva y líquido crevicular de pacientes de la Clínica Odontológica (Semestre B-2022)",		
AUTOR(ES)	Barreto Rivas Ana Margarita		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES)	García Rodríguez Lindsay Karen		
INSTITUCIÓN:	Universidad Católica de Santiago de Guayaquil		
FACULTAD:	Ciencias Médicas		
CARRERA:	Odontología		
TÍTULO OBTENIDO:	Odontóloga		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	24 de febrero de 2023	No. DE PÁGINAS:	18
ÁREAS TEMÁTICAS:	Microbiología, periodoncia, biología molecular.		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	SARS-CoV-2, Saliva, líquido crevicular, detección, diagnósticos, RT-PCR. / SARS-CoV-2, Saliva, gingival crevicular fluid, detection, diagnoses, RT-PCR.		
RESUMEN/ABSTRACT			
<p>Antecedentes: La cavidad oral ha sido definida como uno de los puntos de entrada más importantes del virus; su ubicación en confluencia con el tracto respiratorio, así como el drenaje de saliva, la predispone a ser un foco de gran interés en lo que respecta al SARS-CoV-2. Las bacterias orales, los periodontopatógenos y, en general, la enfermedad periodontal se han asociado con afecciones respiratorias. El entorno odontológico está en constante exposición por el contacto directo con la cavidad oral y sus fluidos. Objetivo: Detectar el SARS-CoV-2 en saliva y líquido crevicular de pacientes de la clínica odontológica. Materiales y métodos: Se escogieron 50 pacientes que acudieron a la clínica Odontológica en un periodo de tiempo desde Noviembre 2022 a Enero 2023, en rango de edad entre 16 a 75 años, con diagnósticos de gingivitis (40%) y periodontitis (60%). Se recolectaron las muestras de saliva y líquido crevicular (GCF) para ser sometidas a extracción y purificación de ácidos nucleicos virales que fueron sometidos a amplificación mediante reacción en cadena de polimerasa - transcripción reversa (RT-PCR). Resultados: La frecuencia de SARS-CoV-2 en las muestras de GCF y saliva son iguales en valores de 55.6% para casos de Gingivitis, y 44.4% para casos de Periodontitis. Conclusiones: Se comprobó que tanto el GCF y la saliva son fluidos que permiten el diagnóstico no invasivo de SARS-CoV-2, se necesitará de estudios de mayor tamaño con la finalidad de determinar si las muestras de GCF resultan equivalentes a las de saliva para el diagnóstico de SARS-CoV-2.</p>			
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: +593 964004987 +593 997796649	E-mail: ana.barreto@cu.ucsg.edu.ec lindsay.garcia@cu.ucsg.edu.ec	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN (COORDINADOR DEL PROCESO UTE)::	Nombre: Ocampo Poma, Estefanía del Rocío		
	Teléfono: +593 996757081		
	E-mail: estefania.ocampo@cu.ucsg.edu.ec		
SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA			
Nº. DE REGISTRO (en base a datos):			
Nº. DE CLASIFICACIÓN:			
DIRECCIÓN URL (tesis en la web):			