

" Fenotipos de resistencia antimicrobiana en cepas de *Staphylococcus aureus*,
Streptococcus grupo viridans y *Enterococcus faecalis* aislados de pacientes
que acudieron a consulta endodoncia en el centro de investigaciones
odontológicas año 2017-2020"

SEBASTIÁN CORTÉS BECERRA



Pontificia Universidad
JAVERIANA
Bogotá

| VIGILADA MINEDUCACIÓN |

Pontificia Universidad Javeriana
Facultad de Ciencias
Programa Microbiología Industrial
Bogotá
2022

" Fenotipos de resistencia antimicrobiana en cepas de *Staphylococcus aureus*,
Streptococcus grupo viridans y *Enterococcus faecalis* aislados de pacientes
que acudieron a consulta endodoncia en el centro de investigaciones
odontológicas año 2017-2020"

SEBASTIÁN CORTÉS BECERRA

Trabajo de grado presentado para optar al título de
MICROBIÓLOGO INDUSTRIAL

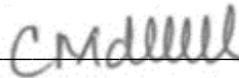
TUTOR

Hugo Díez Ortega, PhD.

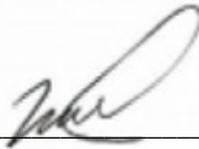
Pontificia Universidad Javeriana
Facultad de Ciencias
Programa Microbiología Industrial
Bogotá
2022

" Fenotipos de resistencia antimicrobiana en cepas de *Staphylococcus aureus*,
Streptococcus grupo viridans y *Enterococcus faecalis* aislados de pacientes
que acudieron a consulta endodoncia en el centro de investigaciones
odontológicas año 2017-2020"

Candidato - Sebastián Cortés Becerra



Par evaluador – Catalina Méndez De La Espriella



Tutor – Hugo Díez Ortega, PhD

Pontificia Universidad Javeriana
Facultad de Ciencias
Programa Microbiología Industrial
Bogotá
2022

" Fenotipos de resistencia antimicrobiana en cepas de *Staphylococcus aureus*,
Streptococcus grupo viridans y *Enterococcus faecalis* aislados de pacientes
que acudieron a consulta endodoncia en el centro de investigaciones
odontológicas año 2017-2020"

Directora Carrera Microbiología Industrial
Marcela Franco, PhD

Decana Facultad de Ciencias
Alba Alicia Trespalacios Rangel

Pontificia Universidad Javeriana
Facultad de Ciencias
Programa Microbiología Industrial
Bogotá
2022

Agradecimientos

Primero que todo agradezco a Dios por darme la fe y la fuerza para llegar a este punto de mi vida, que después de muchas batallas estoy culminado uno de mis más grandes metas.

Agradezco a mi familia, mi mamá, mi papá, mi hermana y mis abuelos que siempre me apoyaron y en los momentos más duros nunca me dejaron solo y me ayudaron a salir todos los problemas que tuve.

Agradezco a mi mamá, mi papá y mi hermana por el apoyo que tuve en estos años y por aceptarme tal como soy y nunca juzgarme por quien soy y por lo que soy.

Agradezco a mi director de tesis el Profesor Hugo por guiarme en este proceso y tenerme mucha paciencia por todo, gracias al he llegado a este punto de mi vida y guiarme hacia mi futuro.

Agradezco a mis amigos, Karen Fajardo, Catalina Ruiz, Julián Ortiz, Juan Pablo Fernández, Manuel Nogueira, Paula Morales, Julián González, Jesús Sandoval que nunca me dejaron caer, siempre estuvieron a mi lado para apoyarme y poder seguir y llegar a este punto de mi vida y de mi carrera.

Agradezco a Karen Fajardo, Catalina Ruiz, Julián Ortiz y Juan Pablo Fernández por ser los mejores amigos y estar siempre en todo los momentos buenos y malos.

Agradezco a la profesora Marcela Franco por ser esa guía que me llevo durante este camino que estuvo lleno de subidas y bajadas, y nunca me dejo solo.

NOTA DE ADVERTENCIA

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

Artículo 23 de la Resolución N°13 de Julio de 1946

Contenido

1.	RESUMEN	9
2.	INTRODUCCION	10
3.	JUSTIFICACIÓN Y PROBLEMA.....	11
5.	MARCO TEORICO.....	12
5.1.	Microbioma Oral	12
5.2.	Antibióticos de uso odontológico.....	15
5.5.	Índices de resistencia en <i>Efa</i> , <i>Sau</i> y <i>SVG</i> a nivel oral.....	19
6.	OBJETIVO GENERAL	20
7.	OBJETIVOS ESPECIFICOS	20
8.	METODOLOGIA.....	21
8.1.	Tipo de investigación:.....	21
8.2.	Aislamientos utilizados:.....	21
8.3.	METODOLOGÍA PARA CUMPLIMIENTO DEL PRIMER OBJETIVO.....	22
8.4.	METODOLOGÍA PARA CUMPLIMIENTO DEL SEGUNDO OBJETIVO	23
8.5.	METODOLOGIA PARA CUMPLIMIENTO DEL TERCER OBJETIVO	25
8.6.	METODOLOGÍA PARA CUMPLIMIENTO DEL CUARTO OBJETIVO.....	26
8.7.	RESULTADOS	27
8.8.	RESULTADOS PRIMER OBJETIVO	27
8.9.	RESULTADOS SEGUNDO OBJETIVO	29
8.10.	RESULTADOS TERCER OBJETIVO.....	31
8.11.	RESULTADOS CUARTO OBJETIVO	33
9.	DISCUSION.....	35
10.	CONCLUSIONES	39
11.	RECOMENDACIONES	39
14.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	40

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. PRINCIPALES MICROORGANISMOS DE ESTUDIOS DE METAGENÓMICA DE LA MICROBIOTA ORAL	13
TABLA 2.FENOTIPOS DE RESISTENCIA PARA CGP A NIVEL DE B-LACTÁMICOS	24
TABLA 3. FENOTIPOS DE RESISTENCIA PARA CGP A NIVEL DE RESISTENCIA DE MLS.....	24
TABLA 4. FENOTIPOS DE RESISTENCIA PARA CGP A NIVEL DE RESISTENCIA DE AMINOGLUCÓSIDOS	25
TABLA 5. NÚMERO DE MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS Y PORCENTAJE DE IDENTIDAD DEL MICROSCAN SYSTEM	27
TABLA 6. PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE SVG AISLADOS DE PACIENTES QUE ACUDEN A TRATAMIENTO ENDODÓNTICO, N=60.....	28
TABLA 7. PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE SAU AISLADOS DE PACIENTES QUE ACUDEN A TRATAMIENTO ENDODÓNTICO, N=60.....	28
TABLA 8. PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE EFA AISLADOS DE PACIENTES QUE ACUDEN A TRATAMIENTO ENDODÓNTICO, N=60.....	29
TABLA 9. MECANISMO DE RESISTENCIA ASOCIADO A B-LACTÁMICOS, N=120.....	30
TABLA 10. MECANISMO DE RESISTENCIA ASOCIADO A MLS, N=120.....	32
TABLA 11. MECANISMO DE RESISTENCIA ASOCIADOS A AMINOGLUCÓSIDOS, N=120	33
TABLA 12. ÍNDICE DE MULTIDROGO RESISTENCIA ENCONTRADO EN LOS AISLAMIENTOS PROVENIENTES DE CAVIDAD ORAL Y ENDODÓNTICA PARA S.AUREUS, E, FAECALIS Y S. VIRIDANS. N=180	34

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. FENOTIPOS DE RESISTENCIA EN CGP DE ORIGEN BUCAL Y ENDODÓNTICO. LA FIGURA MUESTRA LOS FENOTIPOS PREDOMINANTES EN CADA UNO DE LOS MICROORGANISMOS. WT WILD TYPE, BLAC PRODUCTOR DE B-LACTAMASAS, MR METICILINO RESISTENTE, M+ MACRÓLIDO RESISTENTE, L+ LINCOSAMIDA RESISTENTE, S+ STREPTOGRAMINA RESISTENTE, GEN R GENTAMICINA RESISTENTE, STH R STREPTOMICINA ALTA CARGA RESISTENTE Y GSH GENTAMICINA ALTA CARGA RESISTENTE. 30

“ Fenotipos de resistencia antimicrobiana en cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus grupo viridans* y *Enterococcus faecalis* aislados de pacientes que acudieron a consulta endodoncia en el centro de investigaciones odontológicas año 2017-2020”

Cortés S¹, Pérez S², Pérez A³, Rodríguez A⁴, Díez H⁴

¹Estudiante Microbiología industrial, ²Facultad de Medicina, ³Especialización Microbiología Médica, ⁴Facultad de odontología, ⁵Grupo Investigación Enfermedades Infecciosas

1. RESUMEN

Introducción: La microbiota oral puede ser reservorio de bacterias resistentes a antibióticos que debe ser analizada como un factor de riesgo para la salud humana. En este estudio se identificó y determinó la susceptibilidad antimicrobiana de Cocos Gram positivos (CGP) aislados en diferentes muestras de origen oral y endodóntico. **Metodología:** Estudio descriptivo transversal que incluyó 180 aislamientos de Cocos Gram positivos. El perfil de susceptibilidad antibiótica se realizó mediante MicroScan System de la casa Dade/MicroScan PosID PC34 (West Sacramento CA, EE. UU) teniendo presente las normas CLSI vigentes a la fecha. PCR primer específica fue utilizada para detectar los genes de resistencia asociados a los antibióticos. Los fenotipos se establecieron siguiendo los lineamientos previamente estandarizados por otros autores y avalados por el CLSI. **Resultados:** El fenotipo predominante en *S. aureus* fue BLAC y MR; *E. faecalis* presentó resistencia a diferentes aminoglucósidos y *S. viridans*, mostró 100% sensibilidad a β -lactámicos y dos aislamientos mostraron resistencia a Eritromicina. **Conclusión:** El estudio demostró la presencia de CGP resistentes a nivel oral. Los fenotipos identificados, presentan una alta similitud con patrones de resistencia reportados en otras partes del cuerpo.

Palabras clave: Cocos gran positivos, susceptibilidad antibiótica, Endodoncia

ABSTRACT

Introduction: The oral microbiota may be a potential source of antibiotic resistant bacteria that should be analyzed as a risk factor for human health. In this study we identified and determined the antimicrobial susceptibility of Gram-positive cocci (GPC) isolated from different samples of oral and endodontic origin. **Methodology:** Cross-sectional descriptive study that included 180 Gram-positive cocci isolates. Antibiotic susceptibility profiling was performed by Dade MicroScan System/MicroScan Pos ID PC34 (West Sacramento CA, USA) according to current CLSI standards. Primer-specific PCR was used to detect antibiotic-associated resistance genes. Phenotypes were established following guidelines previously standardized by other authors and endorsed by CLSI. **Results:** The predominant phenotype in *S. aureus* was BLAC and MR; *E. faecalis* showed resistance to different aminoglycosides and *S. viridans* showed 100% sensitivity to β -lactams and two isolates showed resistance to Erythromycin. **Conclusion:** The study demonstrated the presence of resistant CGP at the buccal level. The phenotypes identified, present a high similarity with resistance patterns reported in other parts of the body.

Key words: Large positive cocci, antibiotic susceptibility, Endodontics.

2. INTRODUCCION

Se define microbioma oral como el conjunto de microorganismos, sus genes y metabolitos que se localizan a nivel de la cavidad oral. Estos microorganismos incluyen procariontes, eucariontes, y partículas virales, que pueden colonizar tejidos blandos como las encías, el paladar, la lengua, las amígdalas, las vesículas, la Úvula o tejidos duros como los dientes y el paladar, entre otros¹. Actualmente la base de datos *Human Oral Microbiome* reporta que a nivel oral la microbiota está conformada al menos por 770 especies bacterianas y sus episimbiontes, 75 especies micobióticas y unos 200-3000 genotipos virales². La fracción bacteriana correspondiente a microorganismos cultivables, como *Streptococcus grupo viridans*, género *Staphylococcus*, género *Enterococcus*, *Kocuria* y *Micrococcus*, es la más estudiada^{3 4}

El estudio de la microbiota reviste importancia clínica, pues una microbiota estable y saludable beneficia al huésped, y un desequilibrio de la misma conduce a una disbiosis que puede generar patologías orales, y la interacción entre los diferentes microorganismos puede generar a partir de patógenos, la diseminación de genes de virulencia para formar biopelículas y genes de resistencia a antibióticos. Incremento que se ha observado en pacientes asintomáticos, y bacterias como *Staphylococcus aureus* (*Sau*), *Streptococcus grupo viridans* (*SVG*) y *Enterococcus faecalis* (*Efa*) aumenta la resistencia a β -lactámicos, macrólidos, tetraciclinas y vancomicina⁵.

Sau es una de las especies de la microbiota oral que presenta una alta resistencia a los diferentes tratamientos con antibióticos utilizados en los procedimientos de odontología, generando problemas graves de salud, como sucede en las infecciones endodónticas, periodontales, periapicales e infecciones supurativas de las glándulas salivares, entre otras⁶. *SVG* y *Sau* son las especies de Cocos Gram positivos predominantes a nivel oral, y pueden generar enfermedades localizadas a nivel bucal, así como infecciones diseminadas de alto impacto clínico como endocarditis, y bacteriemia. Diferentes reportes empiezan a mencionar la resistencia de *SVG* a amoxicilina, característica no común en este microorganismo⁷. Por otro lado, *Efa* se asocia a enfermedades de contaminación orofecal y refractariedad en tratamientos endodónticos, y a nivel de otras partes se asocia a patologías como sepsis, necrosis en tejidos, y bacteriemia, donde se han reportado cepas con resistencia a vancomicina, y ciprofloxacina de este microorganismo⁸.

La importancia de realizar estudios en estos tres microorganismos es que se ubican en cavidad oral, son los agentes etiológicos de varias enfermedades sistémicas y por diseminación, y los perfiles de susceptibilidad antibiótica, muestran que cada día son resistentes a un mayor número de antibióticos. Una de las recomendaciones para prevenir la diseminación de bacterias antibiótico-resistentes, es la concientización del uso correcto de los antibióticos frente a la presencia de alguna infección, e identificar bacterias antibiótico resistentes en pacientes asintomáticos para que se puedan generar tratamientos para controlar o eliminar estas cepas de portadores de la comunidad y generar una disminución en los problemas de salud pública⁹.

3. JUSTIFICACIÓN Y PROBLEMA

En las últimas décadas el IMR (Índice de Resistencia Múltiple) de las bacterias asociadas a enfermedades de nivel oral o aquellas que se generan por diseminación desde la boca, tienen un aumento clínicamente significativo. Este aumento es principalmente debido al uso inadecuado de antibióticos en las formulaciones clínicas, el uso no controlado de estos antibióticos como aditivo dentro de productos alimenticios e industriales, y la colonización de bacterias resistentes facilitada por el saneamiento e higiene oral deficiente¹⁰. Por estas razones, el control y prevención de infecciones, debe fundamentarse en investigación en tiempo real que contemple los factores de riesgo que aumentan la resistencia¹⁰.

El incremento del IRM en la cavidad oral se ha observado en patologías como la mediastinitis, abscesos cerebrales, sepsis y endocarditis infecciosa ocasionados por *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Porphyromona gingivalis*, y *Enterococcus faecalis*, entre otros². Algunos autores postulan que dicho aumento puede estar relacionado con el aumento de portadores sanos, los cuales han generado la dispersión de estos microorganismos resistentes a antibióticos como la amoxicilina y clindamicina usados como tratamiento para combatir estas patologías a nivel oral, logrando un cambio en el perfil de resistencia de estos microorganismos entre ellos el SAMR (*Staphylococcus aureus* metilino resistente) y SVG planteando que debe implementarse un programa de prevención adecuado para evitar que se puedan convertir en un problema de salud pública⁷.

La identificación de los fenotipos de resistencia de las bacterias *Sau*, *SVG* y *Efa* en la microbiota oral, permitirá conocer el grado de circulación y fenotipo predominante, así como realizar un abordaje integral para el tratamiento de las infecciones que generan estos microorganismos y facilitar la correcta formulación de antibióticos. Igualmente, estos abordajes ayudarían a prevenir y controlar la aparición de cepas resistentes, controlar a los portadores sanos, evitar reacciones adversas a antibióticos como la disbiosis, y contribuyen a disminuir las tasas de morbilidad especialmente por endocarditis bacteriana¹¹.

4. PREGUNTA PROBLEMA

¿Cuáles son los fenotipos y mecanismos de resistencia en las cepas de *Sau*, *SVG* y *Efa* aisladas de pacientes que acuden a consulta de endodoncia en el centro de investigaciones odontológicas de la Pontificia Universidad durante los años 2017-2020?

5. MARCO TEORICO

5.1. Microbioma Oral

El término microbioma hace referencia a la microbiota, y a la forma como esta microbiota interactúa entre sí y con las condiciones ambientales del medio donde se ubica. En tanto que microbiota es el conjunto de diferentes géneros y especies de microorganismos que cohabitan un mismo espacio³. Las interacciones microbianas y de estas con el medio han podido dilucidarse gracias a las diferentes técnicas de metagenómica. Estas técnicas han permitido entender el proceso de eubiosis y disbiosis en una infección, la susceptibilidad del hospedero ante un microorganismo, y los factores de riesgo de los pacientes para padecer ciertas enfermedades, entre ellas las bucales³.

La microbiota en el cuerpo puede tener funciones protectoras, inmunomoduladoras, muconutritivas, proinflamatorias, y la encontramos a nivel gastrointestinal, piel, tracto respiratorio, tracto urinario, aparato reproductor, y uno de los mejores y más estudiados modelos es la microbiota oral. Dado que la boca tiene las condiciones físicas, biológicas, y nutricionales aptas para el crecimiento microbiano.¹²

La boca está compuesta por tejidos blandos como las encías, el paladar, la lengua, las amígdalas, las vesículas, la úvula y tejidos duros como los dientes.¹³ Estudios de metagenómica reportan que en la boca se puede encontrar diferentes géneros de bacterias, hongos y protozoos, predominando bacterias como *Veillonella* sp., *Actinomyces* sp., *Rothia* sp., *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., etc.¹² La gran mayoría de estos microorganismos están en la boca, permanecen gracias a una respuesta inmune tolerogénica, y su función es tapar receptores para patógenos, competir por metabolitos ante oportunistas y producir endonucleasas que fraccionan el ADN de patógenos. Sin embargo, cuando hay condiciones patológicas de base o eventos de inmunosupresión en el hospedero, tienen un comportamiento oportunista generando diversas infecciones ya nombradas.¹⁴

En la última década se estableció el proyecto Microbioma Humano por el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos, con el fin de analizar y caracterizar la microbiota normal en pacientes sanos, proyecto que ayudó a impulsar la investigación en diferentes áreas como la genómica, el área clínica, e incluso en el área de la ética y sus derivaciones³. Estas técnicas genómicas adicionalmente permiten conocer como la microbiota esta interactuando con los diferentes sistemas corporales como el sistema inmune y la relación que tiene con el microbioma de la boca y el intestino. Esta interacción es importante saberla ya que la boca es una de las zonas del cuerpo humano donde se ha logrado caracterizar un elevado número de bacterias, hongos, levaduras y partículas virales, incluyendo más de 9 millones de genes correspondientes a más de 3 mil millones de células.¹⁰

Estudios de metagenómica a nivel oral indican que hay una gran variedad de bacterias patógenas oportunistas que pueden generar infecciones crónicas en el ser humano, principalmente del género *Sau*, *SVG* y *Efa*, los cuales generan

enfermedades centralizadas en la boca o se pueden diseminar a otras partes del cuerpo. Enfermedades como la periodontitis, caries dentales, abscesos en la boca, son unas de las pocas enfermedades que se producen la boca por algún género de bacterias que se encuentran allí.¹⁵ La tabla 1 muestra los principales microorganismos estudiados de la microbiota oral, y posterior a la tabla se describen las patologías asociadas a los mismos.

Tabla 1. Principales microorganismos de estudios de metagenómica de la microbiota oral.

ORIGEN	GENERO	ESPECIE
Saliva	<i>Veillonella</i>	spp
	<i>Actinomyces</i>	spp
	<i>Streptococcus</i>	<i>mitis, salivarius, mutans, viridans</i>
	<i>Granulicatella</i>	<i>adiacens</i>
	<i>Neisseria</i>	<i>flavescens</i>
	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>
	<i>Prevotella</i>	<i>melaninogenica</i>
Mucosa Bucal	<i>Streptococcus</i>	<i>viridans</i>
	<i>Staphylococcus</i>	<i>epidermidis</i>
	<i>Kocuria</i>	spp
	<i>Micrococcus</i>	spp
	<i>Streptococcus</i>	<i>mitis, sanguis, salivarius, pyogenes</i>
Superficies Dentarias	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>
	<i>Campylobacter</i>	spp
	<i>Granulicatella</i>	spp
	<i>Kingella</i>	spp
	<i>Leptotrichia</i>	spp
	<i>Haemophilus</i>	<i>parainfluenza</i>
	<i>Gemella</i>	<i>haemolysanas</i>
	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i>
Lengua	<i>Streptococcus</i>	<i>mitis, sanguis, salivarius, viridans, mutans</i>
	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>
	<i>Gemella</i>	<i>haemolysanas</i>
	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i>

Dentro de las patologías más relevantes asociadas a Efa, Sau y SVG tenemos:

ENDOCARDITIS: es una infección en el miocardio, la cual puede generar en válvula nativa por *Sau* y *Efa*, o válvula lesionada por *SVG*. Se caracteriza por fiebre, soplos cardiacos, petequias, anemia, embolias. La patología involucra tres componentes fisiológicos claves, y es la lesión endotelial que active cascada de coagulación, la respuesta inmune que genere fiebre y signos sistémicos, y el crecimiento bacteriano sobre la válvula infectada o comúnmente denominada vegetación infecciosa, la cual se conforma de plaquetas, células inflamatorias, fibrina y numerosos microorganismos. Al ser una enfermedad poco frecuente, causada por diferentes bacterias como agentes infecciosos, se logra presentar de diversas maneras, como una enfermedad asintomática hasta una grave culminando en una falla multisistémica, por ende, el diagnóstico se ve envuelto en un amplio rango de sospecha, basándose en manifestaciones clínicas, ecocardiografía y hemocultivos, conocidos como criterios de Duke modificados. Para el manejo con antibióticos, depende del organismo causal, la susceptibilidad y los diferentes factores de riesgo que puede tener el paciente. La incidencia de esta enfermedad es de 3 a 10 casos por cada 100.000 habitantes en el año, siendo más frecuente en el género masculino adulto mayor.¹⁶

PERIODONTITIS: infección en la encía que daña los tejidos blandos de la boca y en casos muy crónicos puede incluso dañar los huesos de la boca. La enfermedad periodontal se considera una patología inflamatoria, cuyo factor etiológico primario consiste en una biopelícula de origen bacteriano, que en conjuntos con diversos factores locales y sistémicos generan una contaminación y destrucción de tejidos que soportan los dientes, tales como tejido conectivo, epitelio, hueso alveolar, ligamento periodontal o cemento radicular. Dentro de sus principales manifestaciones clínicas se encuentran la movilidad dental, sangrado, creación de bolsa periodontal, recesión gingival, pérdida de los dientes y disfunción al momento de masticar. Se ha encontrado relación de la enfermedad periodontal con enfermedades crónicas no transmisibles, tales como la diabetes, EPOC, enfermedades cardiovasculares, neoplasias, entre otras, por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS), manifiesta esta enfermedad como una de las más relevantes en salud pública a nivel mundial.¹⁷

CARIES DENTALES: hace referencia a áreas lesionadas de manera permanente en los dientes, debido al deterioro generado por la acidez de los metabolitos bacterianos, desmineralización del diente, ingesta frecuente de alimentos ricos en carbohidratos, y limpieza dental deficiente. La caries dental es considerada una patología multifactorial, transmisible de origen infeccioso que afecta los dientes, destruyendo progresivamente los tejidos duros. Al no tenerse un tratamiento oportuno al remover las caries, puede incurrir en inflamación pulpar, avanzando hacia una pulpitis irreversible y por último causando la necrosis o pérdida de la pieza dental.¹⁸ Algunos factores del huésped son determinantes al momento de desarrollarse la enfermedad, tales como la composición y cantidad de saliva, la presencia de erupciones bucales, morfología de los dientes, la naturaleza de la superficie del diente, edad, genética y determinantes sociales y económicos.¹⁹

ABSCESOS EN LA BOCA: son acumulaciones de pus focales o localizadas en un sitio anatómico específico, generadas por una infección bacteriana, la cual genera dolor, fiebre, etc. Un absceso se define como una reacción inflamatoria derivada de una infección o una necrosis pulpar, se caracteriza para presentarse dolor de rápida aparición, dolor dental, pus e inflamación. Los tejidos involucrados en el proceso infecciosos son los adyacentes al diente o zona submaxilar del cuello y la bucal en cara. Los abscesos profundos ubicado en cuello son generados en los adultos por infecciones odontogénicas, mientras que en los niños logran aparecer por infecciones de vías respiratorias superiores o infecciones orofaríngeas.²⁰⁻²¹.

MEDIASTINITIS: edema e irritación en la zona del tórax entre los pulmones por alguna infección por bacterias.²². El mediastino, se ubica en la mitad de los pulmones y el tórax, por la parte de atrás del esternón, las uniones condrocostales y al frente de los cuerpos vertebrales y costillas.²³. La forma aguda de la enfermedad, se provoca por una infección bacteriana ubicada en el tejido conectivo laxo que se encuentra en el mediastino y se encarga de envolver las estructuras del mediastino. La manera más expedita para identificar la mediastinitis es con técnicas diagnósticas tales como la tomografía computarizada, ecografía o la resonancia magnética, el manejo terapéutico con antibióticos, intervenciones quirúrgicas, soporte nutricional y hemodinámico.²⁴.

5.2. Antibióticos de uso odontológico

En los procesos de infecciones generados en la boca, se usan una amplia gama de antibióticos para contrarrestar y controlar estas infecciones. Históricamente penicilinas, Sulfas, tetraciclinas, eritromicina son de gran utilidad, aunque su uso es empírico y no soportado bajo el reporte de un antibiograma^{25,26}. Actualmente, se usan β -lactámicos (Penicilina, Amoxicilina, Cefadroxilo, Cefalosporinas.), Macrólidos, Lincosamidas principalmente, siendo los primeros los de mayor utilidad²⁷. Dentro de este grupo tenemos la penicilina como antibiótico de primera elección para el uso de tratamientos de infecciones orofaciales agudas por CGP, bacilos y cocos gramnegativos, bacilos Gram positivos, y espiroquetas entre otros 28-29. La primera elección para el tratamiento dentro de las penicilinas, es la amoxicilina, puesto de acción bactericida adecuada y absorción entre el 75% al 90% por vía oral, adicionalmente, el rango que puede presentarse entre la dosis de la terapia y la considerada tóxica es muy amplia, lo que da seguridad al momento de emitir la dosificación. El efecto adverso más representativo es la hipersensibilidad, que puede observarse como una erupción o una reacción anafiláctica, entre el 0,7% al 10% de los pacientes se logran determinar estas reacciones alérgicas y entre el 0,004% al 0.2% las anafilácticas.³⁰. Otro de los derivados de penicilina usados es la amoxicilina, efectiva contra bacterias aerobias y anaerobias. Unida a ácido clavulánico muestra una mayor eficacia, pero más probabilidad de generar efectos secundarios, tales como la candidiasis o diarrea. A pesar de lo anterior, la amoxicilina es una excelente opción que no genera fuertes efectos negativos de consideración. El manejo terapéutico debe mantenerse de 2 a 3 días luego de la aparición de síntomas y signos de la infección, donde por lo general repercute

en 5-7 días.³¹ Dentro de los b-lactámicos que adquieren gran importancia, están las cefalosporinas y derivados de la misma: cefadroxilo, tiene alta actividad contra bacterias Gram positivas como los del género *Sau* y, SVG.²⁶; cefuroxina: actúa contra bacilos Gram Negativos como *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, etc.²⁵ La gran estabilidad de las cefalosporinas a microorganismos capaces de producir betalactamasas es alta, sin embargo, pueden ser inactivas frente a la presencia de *Enterococos*, *Staphylococcus* que son resistentes al meticilina o a la *Listeria monocytogenes*. Su eficacia es muy variable en las infecciones odontogénicas, debido a que presenta poca actividad a los anaerobios orales, por lo que en algunos casos se combina con metronidazol para optimizar la cobertura anaerobia. Las cefalosporinas de primera generación pueden actuar contra bacterias grampositivas aerobias, con una cobertura limitante en las gramnegativas. Las cefalosporinas de tercera generación suelen presentar buena efectividad en bacterias gramnegativas aerobias, sin embargo, tiene poca efectividad en *Staphylococcus* resistente a meticilina y al *Streptococcus* resistente a penicilina.²⁸

Otros antibióticos útiles a nivel oral, son los macrólidos como la eritromicina, cuya acción bacteriostática o bactericida depende de la concentración, y se usa cuando los pacientes son alérgicos a los betalactámicos, pero trae contraindicaciones en pacientes con insuficiencia hepática.²⁵ Otros macrólidos utilizados son la claritromicina o la azitromicina, muy eficaces en el manejo y control de abscesos periapicales, principalmente ante la presencia de resistencia microbiana de cepas de *Streptococcus viridans* por la eritromicina. Se destaca por su bajo efecto adverso en la zona gastrointestinal y por los elevados y perenes niveles tisulares, lo que facilita la posología en dosis única o diaria.³²

En la odontología el proceso de la formulación de los medicamentos se basa en condiciones de cada paciente, en el tratamiento y en el caso de la infección producidas por *Sau*, SVG y *Efa*. Para cada tratamiento sin importar la presencia de síntomas de la infección se formulan con el fin de prevenir la infección. En la formulación se tienen en cuenta parámetros como, la estatura, peso, edad, género, alergia o cualquier factor de paciente que puede generar algún efecto secundario con el tratamiento del antibiótico. Esto quiere decir que no tiene en cuenta si el paciente es un portador sano con alguna cepa con genes de resistencia lo que aumenta el riesgo de la aparición de nuevas cepas con multiresistencia a los antibióticos usados en la odontología.²⁶

5.3. Mecanismos de resistencia antibiótica

Todos los microorganismos pueden desarrollar resistencia a antibióticos, ya sea porque generan una enzima que desdobra o bloquea la función del antibiótico, pueden cambiar las proteínas de la diana de acción, tienen

mecanismos de expulsión citoplasmática del antibiótico o pueden hiperproducir un sustrato que le haga competición metabólica al antibiótico. Los tres microorganismos, base de este estudio *Efa*, *Sau* y *SVG* presentan diversos mecanismos de resistencia a saber. *Sau* presenta una alta resistencia a diferentes antibióticos como los β -lactámicos, Macrólidos, Lincosamidas y Aminoglucósidos, haciendo que su erradicación y control llegue a dificultarse tanto, que se convierta en un problema de salud pública, debido a que actualmente se han reportado que cerca del 90% de las cepas presentan resistencia, al menos a uno de estos antibióticos.⁶

El principal mecanismo de resistencia a la penicilina es enzimático por β -lactamasa la cual se encarga de hidrolizar el anillo betalactámico lo que genera la inactivación de la acción del antibiótico. Esta enzima es codificada por el *blaZ* el cual este sujeto a una regulación por los genes *blaI* y *blaR*, estos genes están a nivel de transposones, lo que le permite el traspaso de la información genética de forma horizontal.¹⁹ Un segundo mecanismo en algunos microorganismos como *Sau*, es la modificación, alteración o pérdida de afinidad de las proteínas de unión a la penicilina PUP, cambios que resultan en una sensibilidad disminuida a los β -lactámicos.⁶

SVG y *Efa* presentan resistencia a antibióticos de los grupos macrólidos y aminoglucósidos, los genes de resistencia que se presentan para el antibiótico de eritromicina son los genes *ermB*, *ermA*, *mefA*, *msrA/B* y *msrC*. Estos genes le proporcionan la resistencia a los macrólidos y aminoglucósidos. Los genes *ermB* codificando para metilasas que tiene como sitio blanco el ribosoma de las bacterias. Los genes *mefA*, *msrA/B* y *msrC* codifican para los mecanismos de bombas de eflujo.³⁴

Existen diferentes metodologías para evaluar la resistencia a un antibiótico. Entre las pruebas para evaluar tenemos métodos manuales como Kirby Bauer, donde se realizan antibiogramas con disco de antibióticos, teniendo como desventaja que usa concentración mínima inhibitoria (CMI) fija.³⁵ Otra metodología, es el método semiautomatizado denominado MicroScan de la casa Dade/MicroScan, el cual utiliza diferentes paneles según el microorganismo, tiene la ventaja de usar antibióticos a diferentes concentraciones para determinar los perfiles de resistencia.³⁵

5.4. Fenotipos de resistencia antibiótica

Se denomina fenotipo resistencia al perfil de resistencia que caracterizan de manera constante a un microorganismo ante un grupo de antibióticos denominados antibióticos marcadores. Se define a estos, como al grupo de antibióticos que muestran hasta donde llega el nivel de Resistencia, y qué acompañados de otro resultado sea sensible o resistente, sirven para diferenciar el perfil de antibióticos de las bacterias entre sí. Por

ejemplo, las bacterias que son resistentes a β -lactámicos de primera generación como la penicilina se denominan Fenotipo BLAC. Esto indica que la resistencia solo llega hasta primera generación, y que a partir de la segunda generación o cefalosporinas es sensible, y si el mecanismo es producción de una enzima, esta enzima β -lactamasa es bloqueada por inhibidores de β -lactamasa como Sulbactam, Ácido clavulánico entre otros. Ese conjunto de antibióticos, Penicilina resistente, Cefalosporina sensible e inhibidor sensible, son los antibióticos marcadores para las BLAC³⁴

A nivel de betalactámicos en CGP, se resumen los fenotipos de resistencia, los cuales se especifican en la tabla 2:

BLAC o productor de penicilinas – Penicilina resistente, Cefalosporina sensible, inhibidor sensible.

CES o productor de cefalosporinas – Penicilina resistente, cefalosporina resistente, inhibidor sensible.

MR o metilino resistente – Penicilina, cefalosporina e inhibidor resistente.

Para los antibióticos del grupo MLS; M macrólidos, L Lincosamidas, S Streptograminas, los fenotipos se denominan solo con un signo (+) al lado de la inicial del antibiótico M+ L+ o S+, donde el signo indica resistencia al antibiótico, pero la resistencia se asocia a uno o varios genes.³⁴ Se resumen los siguientes fenotipos, los cuales se especifican en la tabla 3:

M+ Resistencia a macrólidos – donde la resistencia puede estar dada por la presencia de una metilasa inespecífica o un plásmido de expulsión Mef.

L+ Resistencia a Lincosamidas – donde la resistencia puede estar dada por la presencia de una metilasa inespecífica, de una metilasa específica Inu o hay una mutación en la diana ribosomal inducida por eritromicina.

S+ Resistencia a Streptograminas, donde la resistencia puede estar dada por la presencia de una metilasa inespecífica, por un plásmido de expulsión SB.

Para identificar los genes de resistencia a antibióticos, se usan técnicas moleculares como la PCR clásica si buscan un solo gen o PCR multiplex si buscan varios genes. Los genes que presentan los microorganismos son los precursores de los fenotipos de multiresistencia. En betalactámicos, tenemos el fenotipo *BLAC*, *CES* y *MR*, donde *BLAC* corresponde a genes *bla* productores de betalactamasas, *CES* a genes productores de cefalosporinasas, y genes *MecA* o *MR*- Metilino resistentes, incluye el grupo de los que alteran su PUP. En macrólidos se buscan los genes de expulsión y metilasas como *ermB*, *emrA*, *mefA*, *Inu* entre otros³⁴

5.5. Índices de resistencia en *Efa*, *Sau* y *SVG* a nivel oral

Los índices de multiresistencia hacen referencia a los microorganismos que presentan una resistencia a uno a más de una clase de antibióticos. La resistencia en estos microorganismos ya ha sido reportada y estudiada por muchos autores, donde a nivel de β -lactámicos, y macrólidos de uso oral, *Sau* presenta los mayores índices de multiresistencia, seguida de *Efa* y es ocasional la resistencia en *SGV*^{6,34}

Dentro de los estudios más representativos tenemos los de Russomanda, 2014, cuyo estudio evidenció la presencia de *Sau* resistente en las primeras etapas de la vida del ser humano, permanece en diferentes rangos de edades mostrando que las personas pueden ser portadoras, y está asociado a diferentes patologías orales que incluye fistulas, eritemas y gingivitis entre otros⁶. De igual forma el estudio muestra resistencias a penicilina en un 89.2%, Cefoxitina en 10.7%, Eritromicina y Clindamicina 8.1% y permitió observar que entre un 2.8 a un 8.6% presentaban resistencia a más de un antibiótico⁶. La importancia del estudio se centra en que las cepas resistentes están presentes desde etapas muy pequeñas de la niñez lo que permite que la propagación de estos microorganismos con los IMR altos se propaguen de una forma más efectiva y adicional la posibilidad de que su IMR aumente cada día más.⁶

A nivel de *SVG* otro grupo de los cocos Gram positivos más comunes y registrados en el microbioma de la boca humana, también en las últimas décadas ha presentado un aumento en los IMR a los diferentes antibióticos del grupo de los β -lactámicos. Vale la pena mencionar un estudio de Sánchez y colaboradores, 2015 donde en un estudio de individuos con antibioticoterapia de uso prolongado en individuos con riesgo de Endocarditis bacteriana, se reporta de manera importante resistencia a amoxicilina en un 6.6%, dato que resulta ser relevante porque *SVG* rara vez presenta resistencia a derivados de penicilina, y si bien el reporte numéricamente es bajo, plantea la posibilidad que por diseminación y transferencia de genes, esta resistencia aumente en unos años⁷

Por otro lado, *Efa* considerado un importante patógeno nosocomial, empieza a adquirir gran importancia a nivel oral, pues este microorganismo cada vez presenta un IMR más elevado, y esto se debe a la facilidad que tiene en adquirir nuevos genes de resistencia a diferentes antibióticos. A nivel odontológico, se reporta como el principal patógeno en las infecciones endodónticas persistentes. Un estudio de Seguel y colaboradores, 2020 reportó resistencia a Amoxicilina, Ampicilina, Eritromicina, Metronidazol y cada resistencia se asocia a un fenotipo molecular establecido por PFGE (Electroforesis de campo pulsado).³⁶ Al igual que varios investigadores, Seguel y colaboradores enfatizan en la importancia de *Efa* en las infecciones endodónticas recurrentes ya que esta especie de microorganismo tiene una facilidad para obtener genes de resistencia, y virulencia, y destaca el hecho que a la fecha *Efa* es un indicador de contaminación orofecal, características que lo colocan como un microorganismo que se puede convertir a nivel odontológico, en un problema de salud pública³⁶

6. OBJETIVO GENERAL

- 6.1. Identificar los fenotipos de resistencia presentes en cepas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans* y *Enterococcus faecalis* aislados de pacientes que acuden a consulta de endodoncia en el centro de investigaciones odontológicas de la Pontificia Universidad Javeriana durante los años 2017-2020.

7. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 7.1. Determinar la susceptibilidad antibiótica de los aislados de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans* y *Enterococcus faecalis* aislados de pacientes que acuden a consulta de endodoncia.
- 7.2. Establecer los fenotipos de resistencia presentes en los aislamientos de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans* y *Enterococcus faecalis* identificados en las muestras de pacientes que acuden a consulta de endodoncia.
- 7.3. Evaluar el posible mecanismo de resistencia asociado a los antibióticos testeados en las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans* y *Enterococcus faecalis* aisladas en las muestras de pacientes que acuden a consulta de endodoncia.
- 7.4. Determinar los índices de resistencia a los antibióticos (IRM) en las cepas que presentaron resistencia a más de un grupo de antibióticos.

8. METODOLOGIA

8.1. Tipo de investigación:

Estudio observacional, descriptivo, transversal de muestreo por conveniencia.

8.2. Aislamientos utilizados:

8.2.1. Muestras:

Para el trabajo se utilizaron aislamientos provenientes de muestras tomadas en trabajos previos, bajo los lineamientos establecidos por Rivas y col.²¹ En los trabajos, se tomaron muestras de origen oral correspondientes a hisopados por barrido de mejilla, paladar, lengua, surco yugal y encías, y muestras de origen endodóntico tomadas directamente de conductos radiculares correspondientes a conos de gutapercha y limas K.

8.2.2. Población universo:

Se utilizaron 180 aislamientos de CGP de pacientes que acudieron a consulta de Endodoncia durante los años 2017-2020, provenientes de varios trabajos de investigación.

8.2.3. Población de estudio:

Se utilizaron cepas viables, puras que fueron confirmadas en su identificación microbiológica por un solo método estandarizado, descrito en los siguientes puntos. Se incluyeron 60 aislamientos de *Efa*, 60 aislamientos de SVG, y 60 aislamientos de *Sau*.

8.2.4. Criterios de inclusión:

Pacientes mayores de edad, con autorización por consentimiento informado, que no estuviesen recibiendo tratamiento antibiótico, pacientes referidos para tratamiento endodóntico, clínicamente sanos que no presentaran patologías sistémicas o subyacentes, y que se pudiese recuperar aislamientos viables y 100% puros.

8.2.5. Criterios de exclusión:

Se excluyeron de este estudio pacientes menores de edad, sin consentimiento informado, con algún grado de discapacidad cognitiva o con antibioticoterapia en los últimos 3 meses, pacientes con infección sistémica o subyacente, cepas contaminadas y no viables.

8.2.6. Aval ético investigación:

El proyecto contó con la aprobación del Comité de investigaciones de la facultad para el uso de los aislamientos, los participantes dieron su consentimiento informado y no hay intereses de conflicto en la ejecución del proyecto.

8.3. METODOLOGÍA PARA CUMPLIMIENTO DEL PRIMER OBJETIVO

Para el primer objetivo se realizó la determinación del perfil de susceptibilidad mediante panel MicroScanID 34.

8.3.1. Viabilidad y pureza de los aislamientos:

Los viales de estudios previos se encontraban congelados, y conservados en caldo Brain heart infusion (BHI) glicerol 30%. Para el presente análisis, se descongelaron por 30 minutos a temperatura ambiente, seguidos de 10 minutos a 36-37°C baño maría, homogenización por vortex durante 20 segundos. Una alícuota del homogenizado se transfirió a 5ml de BHI líquido, el cual se incubó 24-48h a 37°C en Shaker orbital a 180 revoluciones por minuto (rpm). A partir del medio líquido se realizaron aislamientos para cada uno de los géneros¹³. Las muestras se sembraron en medios altamente selectivos para cada uno de los microorganismos: CHROMagar™ *Streptococcus* base para SVG, CHROMagar™ *Staphylococcus* para *Sau* y Agar Chromocult® *Enterococcus* para *Efa*, e incubadas 24 horas a 37°C, al 5% de CO₂ [14]. Colonias morfológicamente compatibles con cada uno de los géneros fueron testeadas con Gram y utilizadas para la identificación bioquímica del género y especie mediante el sistema MicroScanSystem de la casa Dade/MicroScan Pos ID PC34 (West Sacramento CA, EE. UU)³³.

Para todos los ensayos que se escriben a continuación, se utilizaron cepas control ATCC. En SVG se usó ATCC 25175, en *Sau* se utilizó ATCC 43300, ATCC 25923, y para *Efa* se usó ATCC 70802 y ATCC 29212.

8.3.2. Identificación de Microorganismos y perfil de susceptibilidad antibiótica – Sistema MicroScan

Siguiendo la metodología propuesta por la casa Dade/MicroScan para el panel Pos ID PC34, de cada una de las cajas, se tomaron 3 colonias de la bacteria y se inocularon en una botella dilutora- PROMPT™ hasta obtener una concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml - Absorbancia 0,150. Obtenida la concentración, la botella dilutora se colocó sobre una bandeja estéril y de allí con una pipeta RENOK automática se pasó a un panel de 96 pozos que en las 4 primeras filas contiene 24 pozos con los sustratos para la identificación bioquímica de la bacteria y en los otros 64 pozos contiene antibióticos a diferentes concentraciones para determinar los perfiles de resistencia. Las placas se incubaron 24 horas para *Sau* y *Efa*, y 48 horas a 37°C 5% CO₂ para SVG.

La susceptibilidad antibiótica, se determinó usando el set de pozos para antibióticos el cual contenía Amoxicilina/clavulónico 4/2 µg, ampicilina 2 a 8 µg, Ampicilina sulbactam 4/8 a 16/8µg, Cefoxitin 4 µg, Cefazolina 4 a 16 µg, Ciprofloxacina 1 a 2 µg, Clindamicina 0.5 a 4 µg, clindamicina inducible 4/0.5 µg, Daptomicina 0.5 a 4 µg, Eritromicina 0.5 a 4 µg, gentamicina 4 a 8 µg, gentamicina synercid 500 µg, gentamicina 8 µg, Levofloxacina 1

- a 4 µg, Linezolid 1 a 4 µg, Moxifloxacin 0.5 a 4 µg, Nitrofurantoina 32 a 64 µg, Oxacilina 0.25 a 2 µg, Levofloxacin 4 µg, Linezolid 4 µg, Moxifloxacin 4 µg, Penicilina 0.03 a 8 g, Rifampicina 1 a 2 µg, Estreptomicina Synercid 1000 µg, Synercid 1 a 2 µg, Tetraciclina 4 a 8 µg, Trimetropin sulfá 0.5/9.5 a 2/38 µg, Vancomicina 0.25 a 16 µg. De acuerdo con los lineamientos, el valor MIC correspondió al valor del último pozo de la serie de dilución que no presentó crecimiento visible y que llevado a los puntos de corte establecidos en las normas CLSI vigentes a la fecha, catalogó dicho valor, ya sea en el rango de sensible, intermedio o resistente¹⁵.

8.3.3. Pruebas manuales confirmatorias para resistencia antibiótica

El panel ID 34 para CGP tiene la ventaja que incluye pruebas confirmatorias dentro de los pozos testeados. Para el caso de metilina incluye Oxacilina y Cefoxitin, y para el caso de MLS hay un pozo iCd que es para confirmar clindamicina inducible²²⁻³³. Dado que no se presentaron incongruencias entre los fenotipos y pozos confirmatorios, no se requirió realizar pruebas manuales confirmatorias, y por eso, en las tablas de clasificación de fenotipos no se incluyeron fenotipos borderline ni falsos positivos.

8.4. METODOLOGÍA PARA CUMPLIMIENTO DEL SEGUNDO OBJETIVO

Para el segundo objetivo, el fenotipo de resistencia se dedujo de acuerdo con los lineamientos reportados por Torres y Cercenado, 2010³⁶ los cuales se especifican en las siguientes tablas.

8.4.1. Fenotipos de resistencia antibiótica

Si bien el trabajo contemplaba tabular todos los fenotipos de resistencia para los antibióticos testeados, estos dependían de los resultados obtenidos. Para este trabajo solo se presentan los lineamientos para establecer fenotipos solo de aquellos antibióticos que resultaron resistentes en el presente trabajo o que podían ser deducidos por el resultado del antibiograma y son:

- 8.4.1.1. Para β-lactámicos: fenotipos BLAC y MR
- 8.4.1.2. Para MLS: fenotipos: M+, L+, S+, MS+, LS+, M+L+S+
- 8.4.1.3. Para aminoglucósidos: GeR, AminR

Tabla 2. Fenotipos de resistencia para CGP a nivel de β -lactámicos

Fenotipo	β -lactámicos 1ª generación (Penicilina)	β -lactámicos 1ª generación +Inhibidor	β -lactámicos 2ª generación (Cefalosporina)	Cefalosporina +Inhibidor	Prueba confirmatoria (Cefoxitina u Oxacilina)	Mecanismo	Gen asociado
WT*	S	S	S	S	S	100% sensible	No aplica
BLAC**	R	S	S	S	S	Penicilinasas	BLA
MR***	R	R	R	R	R	Cambio PBP principalmente para <i>Staphylococcus</i>	MecA

Fenotipos de resistencia por Torres y Cercenado, 2010, modificados Cortes 2022. Se incluyen solo los fenotipos encontrados en el estudio y deducidos de acuerdo con el reporte de antibiograma.

*WT Wild Type o fenotipo salvaje; **BLAC: productores de betalactamasas ***MR: Meticilino-resistente, S: Sensible, R: Resistente

Tabla 3. Fenotipos de resistencia para CGP a nivel de resistencia de MLS

Fenotipo	Eritromicina	Clindamicina	Estreptograminas	Mecanismo	Gen asociado
WT	S	S	S	100% sensible	No aplica
M+	R	S	S	Bomba eflujo de expulsión ribosomal Mutación	Gen mefGen erm
L+	S	R	S	Enzima O-nucleotidiltransferasa 4-lincosamida	Gen lnu
S+	S	S	R	Bomba eflujo de expulsión	Plásmido Sb.
MSB.	R	S	R	Bomba eflujo de expulsión	Gen msrA
LS+	S	R	R	Bomba de expulsión + Enzima O-nucleotidiltransferasa 4-lincosamida	Gen mefGen lnu
iMLSb	R	S	R	Mutación ribosomal	Gen erm
cMLSb	R	R	R	Mutación ribosomal o Bomba de expulsión + Enzima O-nucleotidiltransferasa 4-lincosamida	Gen erm Gen lnu + Gen mef

Fenotipos de resistencia por Torres y Cercenado, 2010, modificados Cortes 2022. Se incluyen solo los fenotipos deducidos de acuerdo con el reporte de antibiograma. MLS Macrólidos,

Lincosamidas, Streptograminas. *M+: Resistencia a Macrólidos; *L+: Resistencia a Lincosamidas *S+: Resistencia a Streptograminas B *MSB: Resistencia a Macrólidos-Estreptograminas b *LS+:

Resistencia a Lincosamida - Estreptogramina b *iMLSb: Resistencia inducible a MLS *cMLSb: Resistencia constitutiva a MLS *S: sensible *R: Resistente

Tabla 4. Fenotipos de resistencia para CGP a nivel de resistencia de aminoglucósidos

Fenotipo	Gentamicina	Kanamicina	Tobramicina	Otro aminoglucósido testeado	Gen involucrado
GeR	R	S	S	S	Ger
AminR	R	R	R	R	Ger, AminR
WT	S	S	S	S	WT

*GeR: Gentamicina resistente *AminR: Aminoglucósido-resistente *WT Wild Type o fenotipo salvaje

8.5. METODOLOGIA PARA CUMPLIMIENTO DEL TERCER OBJETIVO

8.5.1. Mecanismo de resistencia

Una vez determinada la resistencia a los antibióticos y el fenotipo de resistencia, se evaluó el posible mecanismo de resistencia asociado al antibiótico reportado. Para tal fin, aquellas muestras positivas para resistencia, se extrajo ADN y se determinó la presencia de los genes de resistencia antibiótica mediante PCR con primers específicos para cada uno de ellos. Los productos de amplificación se visualizaron en geles de agarosa al 1% en solución TBE 1X – Syber Green, y analizados en foto documentador (ChemiDoc™ MP Imaging System BioRad Laboratories Inc).

8.5.2. Extracción de ADN

Una alícuota del concentrado empleado en la identificación bioquímica, fue utilizado para extraer el ADN de cada uno de los microorganismos y de las cepas control ATCC, siguiendo el protocolo del Kit de la casa comercial DNeasy Blood & Tissue 69504 (Qiagen, Santa Clarita, California). Brevemente, la alícuota que contenía 2×10^9 bact/μl (Absorbancia 0,200) se centrifugó por 10min 500g y el pellet obtenido se suspendió en 180 μl de buffer de lisis e incubó 30 min a 37°C. Para completar lisis se adicionó 25 μl de proteínas K y 200 μl de buffer de extracción e incubado 56°C por 30 min. El paso de extracción se inició con 200 μl de etanol 96-100% y se mezcló por vórtex. Para el siguiente paso de ligación, el lisado se cargó en una columna de centrifugación DNeasy Mini, se centrifugó a 6000 g por 1 min. Para desprender el ADN de la columna, se adicionaron 500 μl de buffer de lavado, centrifugado 6000 g por 1 min y se descartó filtrado. Para el paso final de elusión, en un nuevo eppendorf se adicionaron 200 μl en agua destilada estéril QP, incubado 1 min a temperatura ambiente, se centrifugó 1 min a 6000 g. La concentración de ADN obtenido se determinó espectrofotométricamente a 260/280nm (Nanodrop 2000; thermo Scientific, Wilmintong, DE, USA). Solo se usaron muestras que mostraran una relación ADN/Proteína cercana a 1.7 ± 0.3 .

8.5.3. PCR para genes de resistencia a antibióticos

De acuerdo con los resultados obtenidos, solo se buscaron los genes de resistencia asociados a los antibióticos que se reportaron como resistentes en el antibiograma, como fueron los genes *BlaZ* para el fenotipo *BLAC*, el gen *MecA* para el fenotipo *MR*, los genes *Inu*, *msrA*, *erm* para el fenotipo *MLS* y el gen *aac6`aph2`* para aminoglucósidos.

Para el fenotipo *BLAC*-gen *BlaZ*, en los 3 microorganismos se utilizó la metodología de Martinson y col, 2017 utilizando los primer Forward CAAAGATGATATAGTTGCTTATTCTC y Reverse TGCTTGACCACTTTTATCAGC que dan un producto de 421pb³⁷

Para el fenotipo *MR*-gen *MecA* observado solo en *Sau* se siguió la metodología de McClure y col 2017, donde se obtuvo un amplificado de 310pb utilizando los primers Forward GTAGAAATGACTGAACGCCGATAA y Reverse CCAATCCACATTGTTTCGGTCTAA³⁷

Para el fenotipo *MLS* en los 3 microorganismos, se siguió la metodología de Lina y col, 1999²⁵ donde para un producto de 310pb del gen *Inu* se usaron los primers Forward GGTGGCTGGGGGTAGATGTATTAAGTGG y Reverse GCTTCTTTGAAATACATGGTATTTTCGATC,

Los genes *erm* no fueron detectados, dado que los resultados de antibiograma no sugerían la presencia de metilasas en las cepas aisladas.

Para aminoglucósidos en los 3 microorganismos se siguió la metodología propuesta por Behnood y col, 2013 obteniéndose un producto de 363pb con los primer Forward CCAAGAGCAATAAGGGCATA y reverse CACTATCATAACCACTACCG.

Realizadas las PCR, los productos de amplificación fueron visualizados en geles de agarosa al 1% en solución TBE 1X – Syber Green, y analizados en foto documentador (ChemiDocTM MP Imaging System BioRad Laboratories Inc.).

8.6. METODOLOGÍA PARA CUMPLIMIENTO DEL CUARTO OBJETIVO

8.6.1. Índice de multiresistencia

Para evaluar el grado de resistencia a los antibióticos, se siguió la metodología propuesta por Cataldo y colaboradores, 2014²⁶ en la cual se calculó un índice expresado en porcentaje. Sobre el número total de microorganismos analizados, se determinó el porcentaje de cepas sensibles, y cepas resistentes, y dentro de las resistentes se determinó cuantas eran sensibles a 1 o más antibióticos.

8.7. RESULTADOS

De acuerdo con la metodología empleada para cumplir con cada uno de los objetivos planteados, se obtuvieron los siguientes resultados:

8.8. RESULTADOS PRIMER OBJETIVO

El aislamiento y recuperación de las cepas permitió obtener datos que le dan validez al estudio, pues se encontró un 100% de concordancia entre los métodos utilizados para las cepas conservadas en glicerol respecto al método unificado utilizado para la identificación como es el MicroScan System, obteniéndose los siguientes datos:

Tabla 5. Número de microorganismos identificados y porcentaje de Identidad del MicroScan System

Microorganismo identificado	Número de aislamientos Recuperados	Viabilidad y pureza del aislamiento	Concordancia con el método empleado en otros proyectos
<i>Sau</i>	60	100%	100% Métodos manuales y MicroScan ID 33
<i>SVG</i>	60	100%	API®/ID32, BBL™ Crystal™ Identification Systems Rapid Gram-Positive ID Kit,
<i>Efa</i>	60	100%	MALDI TOF y MicroScan ID 33

*La viabilidad y pureza fue evaluada mediante tinciones y cultivos selectivos; la concordancia analiza mediante Excel simple.

8.8.1. Perfil de susceptibilidad antibiótica – Sistema MicroScan

Las pruebas de MicroScan System ID 34 permitieron observar los siguientes resultados de resistencia en cada uno de los microorganismos:

8.8.2. Resistencia en SVG

Los SVG presentaron 100% (60 aislamientos) de sensibilidad a todos los antibióticos utilizados, excepto el 3.33% (2 aislamientos) que presentaron resistencia a Eritromicina. Las MIC mostraron un valor bajo tanto en los antibióticos sensibles, como en los 2 resultados resistentes. La tabla 6 muestra los antibióticos regularmente utilizados en Odontología y que a la vez son marcadores que sirven para la determinación de los fenotipos de resistencia.

Tabla 6. Perfil de susceptibilidad antibiótica de SVG aislados de pacientes que acuden a tratamiento endodóntico, n=60

Grupo	Antibiótico	% Sensibilidad	% Resistencia	MIC para Resistencia
β-lactámicos	Ampicilina	100	0	
	Ampicilina Sulbactam	100	0	
	Amoxicilina Clavulónico	100	0	
	Cefazolina	100	0	
	Oxacilina	100	0	
	Penicilina	100	0	
M (Macrólidos) (Lincosamidas) S (Streptograminas)	Clindamicina	100	0	
	Eritromicina	96.7%	3.33%	>4.0 µg/ml
	Synercid	100	0	
Aminoglucósidos	Gentamicina	100	0	
	Gentamicina de alta Carga	100	0	
	Streptomina de alta Carga	100	0	

8.8.3. Resistencia en *Sau*

Los *Sau* presentaron a nivel de β-lactámicos resistencia característica de la especie, donde el 100% (60 aislamientos) fue resistente al antibiótico de grupo de la primera generación como Penicilina, Amoxicilina, y un 40% (24 aislamientos) de ellos presentó resistencia simultánea al inhibidor (Sulbactam o Acido clavulónico), cefalosporina y oxacilina. A nivel de macrólidos se pudo observar que el 26.6% (16 aislamientos) presentaron algún tipo de resistencia MLS, siendo el 23.3% (14 aislamientos) resistentes a eritromicina, 13.33% (8 aislamientos) a clindamicina, los cuales incluían 6 aislamientos resistentes simultáneamente a los dos antibióticos. A nivel de aminoglucósidos un 6.66% (4 aislamientos) presentó resistencia a gentamicina. La tabla 7 muestra los resultados obtenidos para *Sau*.

Tabla 7. Perfil de susceptibilidad antibiótica de *Sau* aislados de pacientes que acuden a tratamiento endodóntico, n=60

Grupo	Antibiótico	% Sensibilidad	% Resistencia	MIC para Resistencia
β-lactámicos	Ampicilina	0	100	>8.0 µg/ml
	Ampicilina Sulbactam	60	40	>8/4 µg/ml
	Amoxicilina Clavulónico	60	40	>4/2 µg/ml
	Cefazolina	60	40	>8.0 µg/ml
	Oxacilina	60	40	>2.0 µg/ml
	Penicilina	0	100	>8.0 µg/ml

M (Macrólidos)	L	Clindamicina	86.6	13.3	>4.0 µg/ml
		Eritromicina	76.6	23.3	>4.0 µg/ml
S (Streptograminas)		Synercid	100	0	
		Gentamicina	93.34	6.66	>8.0 µg/ml
Aminoglucósidos		Gentamicina de alta carga	100	0	
		Streptomina de alta carga	100	0	

8.8.4. Resistencia en *Efa*

Antibióticos como Penicilinas, Oxacilina, Eritromicina y Clindamicina fueron suprimidos de la tabla de resultados, debido a que *Efa* presenta resistencia intrínseca estos antibióticos, y los inhibidores se quitaron debido a la baja afinidad por PBPs lo cual arrojaría un resultado 100% resistente. La tabla 8 muestra los antibióticos analizados con los resultados encontrados que muestran una resistencia entre el 10-15% para Ampicilina y aminoglucósidos.

Tabla 8. Perfil de susceptibilidad antibiótica de *Efa* aislados de pacientes que acuden a tratamiento endodóntico, n=60.

Grupo	Antibiótico	% Sensibilidad	% Resistencia	MIC para Resistencia
β-lactámicos	Ampicilina	90	10	>8.0 µg/ml
	Cefazolina	100	0	
	Gentamicina	90	10	>8.0 µg/ml
Aminoglucósidos	Gentamicina de alta carga	90	10	>500 µg/ml
	Streptomina de alta carga	85	15	>1000 µg/ml

8.9. RESULTADOS SEGUNDO OBJETIVO

8.9.1. Fenotipos de resistencia antibiótica

De acuerdo con la metodología propuesta por Torres y cercenado, 2010, y descrita en las tablas 6, 7 y 8, se determinaron los fenotipos de resistencia para β-lactámicos, MLS y aminoglucósidos en cada uno de los microorganismos. Los 3 microorganismos presentan patrones de resistencia, siendo mayores en *Sau* que en los otros microorganismos. Los resultados obtenidos se ilustran en la figura 1.

En *Sau* el fenotipo predominante fue MR (Resistencia a penicilina, cefalosporina e inhibidores) con un 40%

seguido del fenotipo L (Clindamicina) en 23%, y Gen R (Aminoglucósido/Gentamicina) en 6,66%

En SVG la mayoría de las cepas son sensibles 96.7% más hay un 3.33% de resistencia M+ (Macrólido/Eritromicina).

En Efa se presenta un 10% BLAC (Resistente a Penicilina) y una marcada resistencia a aminoglucósidos 10% en gentamicina, 10% gentamicina de alta carga, y 15% Streptomycin de alta carga.

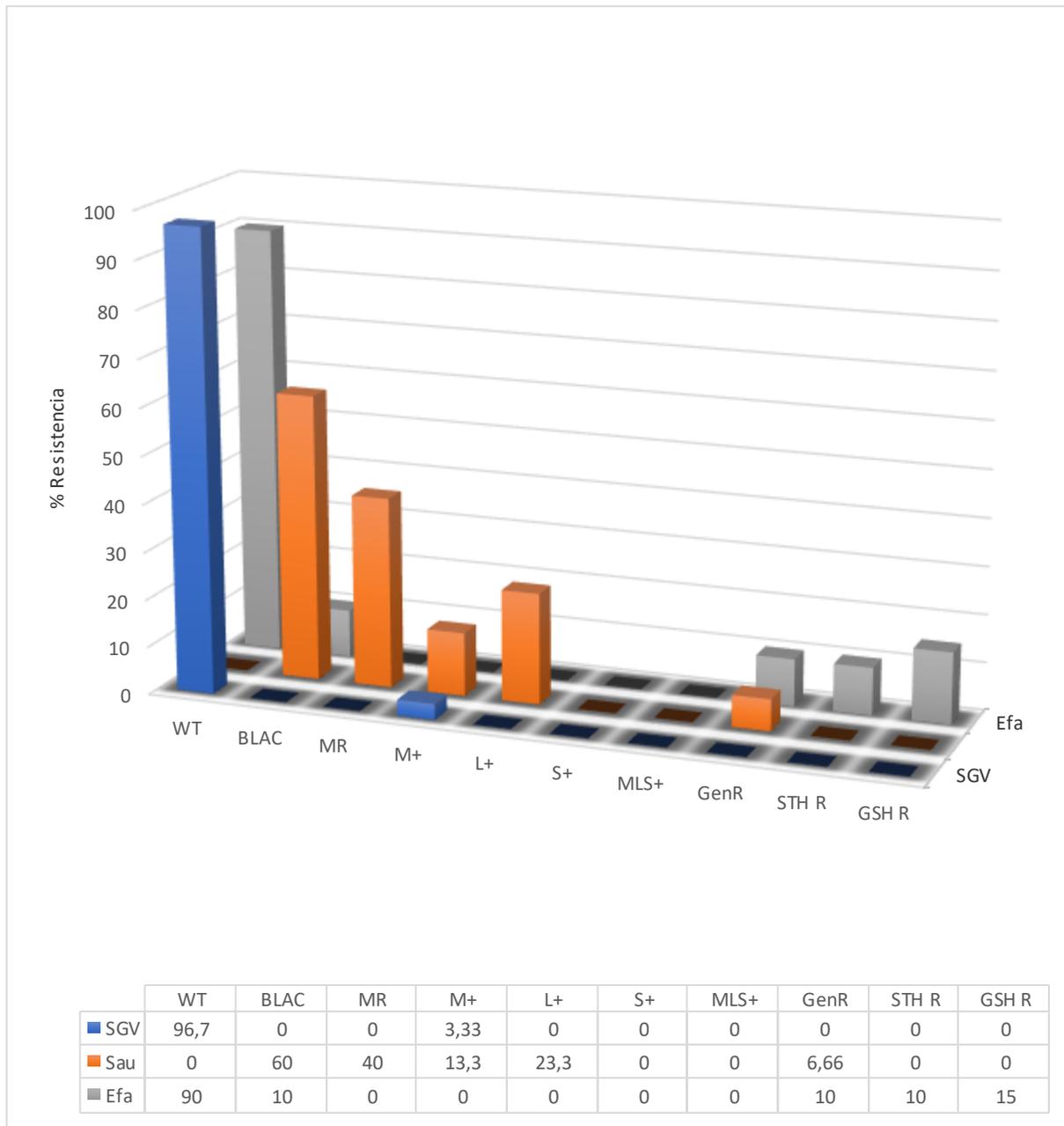


Figura 1. Fenotipos de resistencia en CGP de origen bucal y endodóntico. La figura muestra los fenotipos predominantes en cada uno de los microorganismos. WT Wild Type, BLAC productor de β -lactamasas, MR Meticilino resistente, M+ Macrólido resistente, L+ Lincosamida resistente, S+ Streptogramina resistente, Gen R Gentamicina resistente, STH R Streptomycin alta carga resistente y GSH gentamicina alta carga resistente.

8.10. RESULTADOS TERCER OBJETIVO

Mecanismo de resistencia

Efectuadas las PCR con primer específico para cada uno de los aislamientos se obtuvieron los resultados que ilustra la tabla 9,10,11.

8.10.1. Mecanismo de resistencia en β-lactámicos

Para análisis de β-lactámicos, no se incluyeron los SVG porque el 100% de ellos era sensible para los antibióticos de este grupo. Los resultados ilustrados en la tabla 12 mostraron:

Las bacterias del fenotipo *BLAC*, están asociadas a la producción de enzimas tipo β-lactamasas, las cuales son codificadas por genes como el *BlaZ*, las cuales le confieren resistencia a Penicilina, Amoxicilina y Ampicilina, pero sensibilidad a inhibidores. Con los resultados anteriores el 60% (36 casos) de *Sau* y 10% (6 casos) de *Efa* tenían el fenotipo *BLAC*. Efectuada la PCR *BlaZ* a estos casos, se encontró que el 100% de los *Sau* tenían el gen *BlaZ* y el 50% de los *Efa* tenían el gen.

Dado que solo 3 de los 6 casos de *Efa* tenían el gen *BlaZ*, el otro mecanismo posible en este género y especie es la baja afinidad del antibiótico por las PBP, y a la fecha no hay prueba molecular para evaluar dicha afinidad.

Tabla 9. Mecanismo de resistencia asociado a β-lactámicos, n=120

Fenotipo	Fenotipo BLAC		Fenotipo MR			
	% aislamientos	Presencia Gen	Blaz	% aislamientos	Presencia MecA	Gen
<i>SGV</i>	0	0	0	0	0	
<i>Sau</i>	60% (36 aislamientos)	60% (36 aislamientos)	40% (24 aislamientos)	40% (24 aislamientos)	40% (24 aislamientos)	(24)
<i>Efa</i>	10% (6 aislamientos)	5% (3 aislamientos)	0	0	0	

8.10.2. Mecanismo de resistencia en Macrólidos (M) Lincosamidas (L) Streptograminas (S)

Las bacterias del fenotipo MLS, están asociadas diferentes mecanismos de resistencia planteados en la tabla 6. Para el análisis no se tuvo presente a *Efa*, dado la característica de resistencia intrínseca que tienen estos microorganismos hacia estos antibióticos. Se analizó la resistencia que en este grupo presentaban el 3.33% (2 aislamientos) de *SVG* y el 23.3% (14 aislamientos) de los *Sau*.

Bajo el contexto teórico enunciado en este trabajo en páginas anteriores, se montaron PCRs para los genes asociados a la resistencia de los antibióticos que conforman los MLS donde los resultados mostraron resistencia a Macrólidos asociado al gen *Mef A* – Fenotipo M+, y resistencia a clindamicina asociada al gen *Inu*,

fenotipo L+. Dado que no se presentaron resistencia a Streptograminas o resistencia a los tres antibióticos del grupo, no fue necesario detectar los genes *emr* relacionados a esta resistencia que corresponde a la acción de metilasas.

Los resultados mostraron que en SVG el 3.33% (2 aislamientos) M+ presentaban el gen *Mef* que le confiere resistencia a Eritromicina.

A nivel de *Sau*, el 23.3% (14 aislamientos) clasificados como M+, 13.3% (8 aislamientos) L+ presentaron el gen *Inu*, y 10% (6 aislamientos) fenotipo M+L+ presentaron los dos genes *MefA* e *Inu*.

Tabla 10. Mecanismo de resistencia asociado a MLS, n=120

Fenotipo	Fenotipo M+		Fenotipo L+			Fenotipo M+ L+	
	% aislamientos	Presencia Gen MefA	% aislamientos	Presencia Gen Inu	% aislamientos	Presencia Gen MefA e Inu	
SGV	3.33% (2 aislamientos)	3.33% (2 aislamientos)	0	0	0	0	
<i>Sau</i>	23.3% (14 aislamientos)	23.3% (14 aislamientos)	13.3% (8 aislamientos)	13.3% (8 aislamientos)	10% (6 aislamientos)	10% (6 aislamientos)	
<i>Efa</i>	No aplica	No aplica	No aplica	No aplica	No aplica	No aplica	

8.10.3. Mecanismo de resistencia en Aminoglucósidos

A nivel de *SVG* no se incluyeron en el análisis dado que presentaron un 100% de sensibilidad. A nivel de *Sau* el 6.6% (4 aislamientos) presentaron resistencia a gentamicina, fenotipo *GenR*

A nivel de *Efa* el 10% (6 aislamientos) presentaron resistencia a gentamicina-genotipo *GenR*, el 10% (6 aislamientos) a gentamicina de alta carga – Genotipo GSH R, el 15% (9 aislamientos) presentaron resistencia a estreptomina de alta carga- Genotipo STH R. De esos aislamientos, 6 (10%) presentaron resistencia simultánea a los 3 aminoglucósidos. El principal gen asociado a la resistencia de aminoglucósidos es el gen *aac6`aph2*, el cual fue analizada su presencia en estos aislamientos, encontrándose que era positivo en las cepas de *Efa* que presentaron simultáneamente resistencia a los 3 antibióticos y en las cepas de *Sau* Gen R. Los resultados no permitieron dilucidar cual es el posible mecanismo de resistencia de 3 aislamientos de *Efa*, pues hay por lo menos unas 10 enzimas adicionales asociadas, costo que no se pudo asumir en el trabajo. La tabla 16 ilustra los resultados

Tabla 11. Mecanismo de resistencia asociados a aminoglucósidos, n=120

Fenotipo	GenR		GSH R		STH R	
	% aislamientos	Presencia Gen aac6`aph2	% aislamientos	Presencia Gen aac6`aph2	% aislamientos	Presencia Gen aac6`aph2
SGV	No aplica	No aplica	No aplica	No aplica	No aplica	No aplica
<i>Sau</i>	6.6% (4 aislamientos)	6.6% (4 aislamientos)	0	0	0	0
<i>Efa</i>	10% (6 aislamientos)	10% (6 aislamientos)	10% (6 aislamientos)	10% (6 aislamientos)	15% (9 aislamientos)	0

8.11. RESULTADOS CUARTO OBJETIVO

8.11.1. Índice de Multiresistencia

Determinados los fenotipos de resistencia y mecanismo asociado, se siguió la metodología propuesta por Cataldo y colaboradores 2014 para microorganismos en cavidad oral, mirando que microorganismos presentaban resistencia a más de un antibiótico. Los resultados mostraron que existen 8 tipos de patrones agrupados de acuerdo con el número de antibióticos resistentes. Las frecuencias relativas se presentan en la tabla 15 figura 3, mostrando que el microorganismo que presenta IMR más elevados es *Sau* con 9 antibióticos que pertenecen a 3 grupos diferentes, y el que menos presenta es *SVG* con un antibiótico. Debe destacarse que estos microorganismos aislados de individuos aparentemente sanos presentan una elevada carga bacteriana acompañada de genes de resistencia a antibióticos.

Tabla 12. Índice de multidrogo resistencia encontrado en los aislamientos provenientes de cavidad oral yendodóntica para *S.aureus*, *E. faecalis* y *S. viridans*. n=180

Patrón de resistencia	Microorganismo	Numero de antibióticos resistentes	Antibióticos resistentes	Numero de aislamientos	% relativo delMR
A	<i>SVG</i>	1	Eritromicina	2	2,898550725
A	<i>Efa</i>	1	Ampicilina	3	4,347826087
B	<i>Sau</i>	2	Ampicilina, Penicilina	34	49,27536232
C	<i>Sau</i>	3	Ampicilina/penicilina/Garamicina	2	2,898550725
C	<i>Efa</i>	3	Gentamicina, Gentamicina y Streptomicina de alta carga	3	4,347826087
D	<i>Efa</i>	4	Ampicilina, Gentamicina, Gentamicina y streptomicina de alta carga.	3	4,347826087
E	<i>Sau</i>	6	Ampicilina, Ampicilina/sulbactam, Amoxal clavulónico, Cefoxitin, Oxacilina, penicilina	8	11,5942029
F	<i>Sau</i>	7	Ampicilina, Ampicilina/sulbactam, Amoxal clavulónico, Cefoxitin, Oxacilina, penicilina, Eritromicina	6	8,695652174
G	<i>Sau</i>	8	Ampicilina, Ampicilina/sulbactam, Amoxal clavulónico, Cefoxitin, Oxacilina, penicilina, Clindamicina, Eritromicina	6	8,695652174
H	<i>Sau</i>	9	Ampicilina, Ampicilina/sulbactam, Amoxal clavulónico, Cefoxitin, Oxacilina, penicilina, Clindamicina, Eritromicina, Gentamicina	2	2,898550725
		Total		69	100

9. DISCUSION

El proyecto del microbioma humano oral es el pilar para entender como es la interacción entre todo los microorganismos y el huésped, y por ello la presencia de cepas con fenotipos de multirresistencia como *Sau*, *SVG*, y *Efa* tienen gran importancia en salud oral^{1,10}. Las infecciones odontológicas por microorganismos resistentes constituyen una alarma epidemiológica en que se debe controlar la propagación de bacterias con fenotipos de multiresistencia. Uno de los fines más importantes de la investigación fue conocer la presencia de microorganismos con fenotipos de multiresistencia, mediante la determinación de perfiles de susceptibilidad antibiótica, pruebas moleculares e índices de multiresistencia.

El estudio permitió observar la presencia de estos 3 microorganismos en los pacientes que acudieron a consulta endodóntica siendo *Sau* el de mayor presencia en los 4 puntos de muestreo, lo que representa una colonización de un 75% de los puntos analizados, seguido de *SVG* también está en 3 de los 4 puntos indicando también un 75% de colonización y finalmente *Efa* solo está en 2 de 4 puntos, representado el 50 % de colonización.

Un porcentaje similar en cuanto a la presencia microbiana se mostró en el estudio realizado por Pineda et al, en el año 2020, dando como resultado que del total de las muestras tomadas y analizadas, el 67,7% de la población de estudio contaron con la presencia de *Sau*, lo cual se encuentra fuertemente relacionado con la presencia de síntomas asociados a enfermedades respiratorias durante los últimos tres meses, adicional se evidenció de manera predominante en los hombres.³⁸ De la misma manera, el trabajo desarrollado por Mbili – Rocaro et al, en el 2017, referente a la identificación de *Sau* en bolsas periodontales de pacientes en un centro odontológico, dieron como resultado la predominancia de la cepa en los adultos mayores en un porcentaje de 67,8%, dentro de los 16 aislamientos obtenidos en 50 pacientes.³⁹

SVG, es un microorganismo habitual de la cavidad oral, previniendo la colonización de microorganismos patógenos, sin embargo, posee una característica de ser oportunista, que ante diversos mecanismos de fijación puede colonizar los dientes y las válvulas del corazón. A nivel odontológico, ciertos procedimientos les facilitan ingresar al torrente sanguíneo y generar enfermedades, primordialmente la endocarditis.⁴⁰ Por lo anterior es posible identificar la presencia de este microorganismo en el presente estudio, ante su constante presencia habitual en el ambiente bucal de la población analizada. El trabajo realizado por Alfaro en el año 2015, referente a la identificación de *SVG* en infantes de 6 a 24 meses, corrobora lo presentado en este estudio, ante la presencia de este microorganismo como habitante usual en la boca, arrojando como resultado la presencia de *SVG* en el 37.8% de las muestras analizadas.⁴¹ Sin embargo, son datos muy menores a los obtenidos en este proyecto el cual correspondió al 75% de colonización en los puntos de muestreo.

En referencia a *Efa*, se encuentra fuertemente asociado a infecciones nosocomiales en la cavidad oral, a pesar de encontrarse habitualmente en el tracto gastrointestinal, su presencia en los sistemas de conducto radiculares en los dientes ante una posible mala manipulación de los equipos en el tratamiento endodóntico es común, por lo anterior, y acorde a los resultados obtenidos en este trabajo, la presencia de *Efa* es posible en los puntos de muestreo analizados. Tal como sucedió en el estudio desarrollado por Carrero en el 2015, quienes buscaron identificar la presencia de *Efa* en pacientes que acuden a la consulta odontológica, mostraron resultados de una baja frecuencia del microorganismo en la mucosa oral correspondiente al 5%, es decir, de 200 pacientes, se aisló en 10 sujetos, principalmente ante la presencia de prótesis removibles.⁴²

Este estudio mostro la presencia de estos 3 microorganismos en la boca ya que, con resultado similares en el estudio del microbioma humano por Moreno del Castillo y colaboradores del año 2018, los cuales después de poder identificar los géneros y especies que puede tener los seres humanos.¹ Teniendo en cuenta esos estudios el microbioma humano está compuesto de muchos microorganismos que en estostiempos se consideran patógenos oportunistas como los *Sau*, *Efa* y *SVG*. Estudios realizados por Quintanay colaboradores en el año 2017¹⁰ donde muestra que los géneros con mayor prevalencia de los genero *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Enterococcus*. Lo que se puede comparar con los resultados dados en este estudio, ya que en el proceso de aislamiento para obtener las cepas estos géneros estuvieron presentes con un porcentaje mayor.

En esta investigación se puede evidenciar que *Sau* presentó un elevado patrón de resistencia, a β -lactámicos, Macrólidos, Aminoglucosidos, entre otros.¹⁷ Estos patrones de resistencia se vienen observando de años atrás como lo describe en el estudio de Russomando⁶ para las cepas de *Sau*, la cual reporto que el 94.6% de los aislamientos generan resistencia al menos a uno de los antibióticos sometidos a la investigación, y de estas el 10.8% son cepas con multiresistencia de las cuales son resistentes a metilina, esto gracias a que las cepas presentan el gen *mecA*.⁶

Como resultado que obtenidos en esta investigación para *Sau* se ve que la cepas que presentan un multiresistencia han tenido un aumento significativo, para los fenotipo de multiresistencia (WT Wild Type, BLAC productor de β -lactamasas, MR Metilino resistente, M+ Macrólido resistente, L+ Lincosamida resistente, S+ Streptogramina resistente, Gen R Gentamicina resistente, STHR Streptomycin alta carga resistente y GSH gentamicina alta carga resistente) en comparación a demás investigaciones se ve que uno de los fenotipos de multiresistencia ha aumentado, en los estudios de Russomando reportan que para el antibiótico metilina solo el 10.8% de las cepas estudiadas tenían esta respuesta, en comparación a los resultados obtenidos el cual da un 40% de las cepas con efecto de resistencia a este antibiótico, adicionalmente *Sau* es la

bacteria que presenta porcentajes elevados en resistencias, WT: 0%, BLAC: 60%, MR: 40%, M+: 23.3%, L+: 0, S+: 0, MLS+: 6.66, GenR: 0, STHR: 0, GHR: 0.

En el estudio se encontró que el porcentaje de resistencia de *Sau* a la penicilina es del 60%, en comparación al estudio de Ranero y colaboradores²³ 2011, se ve que el porcentaje de resistencia a disminuido un poco más del 30% ya que reporta un 90% de resistencia de las cepas a la penicilina, esto puede ser que los genes de resistencia han mutado al punto de presentar resistencia a antibióticos más potentes, también el estudio mostro la presencia del gen BlaZ. ²³ Ranero también define la resistencia a la meticilina, el cual en menciona que en la década de los 60 en Inglaterra se reporta por primera vez la resistencia de *Sau* a la meticilina dado como nombre SAMR (Staphylococcus aureus Meticilino resistente), esto le da la resistencia no solo a la meticilina si no a los demás antibióticos de menor eficacia como dicloxacilina, genes específicos para la resistencia a cuál es adquirida por el gen *mecA*, el cual es el encargado de codificar cefalosporinas de 1° y 2° carbapenémicos, entre otros antibióticos tengan el efecto esperado para el control y/o la eliminación de las cepas resistentes. Esto efectos se debe a que estas cepas adquirieron losla PBP2a y el gen *mecA* el cual se encuentra localizado en un isla de genómica móvil llamada Cassette Cromosomico Staphylococcico mec o (SCC*mec*), esta última proteína es una proteína de unión la cual se ve afecta el punto de unión con el punto de unión del antibiótico. ²⁴

Pineda et al, (2020), identificó en su estudio que la resistencia de *Sau* a varios antibióticos muestra una mayor proporción de resistencia a cefoxitin, un 25% los hombres y 75% en mujeres, oxacilina 3,33% en el género masculino y 75% de eritromicina para el género femenino. ³⁸. Lo anterior es superior a los valores obtenidos en este estudio, puesto que los porcentajes de resistencia fueron inferiores, primordialmente la eritromicina que solo representó un 23.3% y en cuanto a la oxacilina los valores analizados fueron superiores, al tener una inhibición de 40%.

Mobili identificó una resistencia de *Sau* de 35% a la oxacilina y a cefoxitin, 30% a la clindamicina y eritromicina, un 10% a ciprofloxacina, adicionalmente que son meticilino resistentes.³⁹ Al comparar estos datos con el presente proyecto, se encuentran valores similares, principalmente para el caso de la oxacilina y cefoxitin, al ser una cefalosporina, con una diferencia porcentual de 5%. En cuanto a la eritromicina la diferencia en representativa al ser más del 50% el incremento de la resistencia en este caso. La clindamicina los valores de resistencia son muy similares en los dos estudios.

El segundo microorganismo que se analizó en el estudio para evaluar su resistencia fue *Efa*, el cual en las últimas décadas ha tomado una importancia en infecciones endodónticas persistentes. Este microorganismo muestra un porcentaje de resistencia no mayor al 15 % de las frente a los antibióticos del grupo de los β -lactámicos presentado un 10% de

resistencia a la cefazolina y también presenta resistencia a los antibióticos del grupo aminoglucósidos con un 10% a las gentamicinas y a la gentamicina de alta carga y un 15% frente a Streptomina de alta carga. En estudios realizados por Seguel y colaboradores, las cepas evaluadas en el estudio tienen una resistencia a los antibióticos como tetraciclina con un 46.15%, un 30.77% a eritromicina y un 100% de resistencia a metronidazol. En el estudio realizado, *Efa* presentó porcentajes bajos en resistencias, WT: 90%, BLAC: 10%, MR: 0%, M+: 3.33%, L+: 0%, S+: 0%, MLS+: 0%, GenR: 10%, STHR: 10%, GHR: 15%. Estos resultados dan a entender que los genes de resistencia presentes en estas cepas son *BLA*, *GenR*, *ermB*, son los que codifican para la resistencia de estos microorganismos. Carrero refleja en su estudio datos similares en cuanto al proceso de resistencia de los antibióticos el cual maneja el mismo método de MicroScanSystem de Dade Behring Inc, PC34, identificando resistencia de algunas cepas a la minociclina y la sensibilidad a todos los antibióticos contenidos en el panel.⁴²

Por último, grupo que se analizó en el estudio fue a SVG, el cual no muestra un alto porcentaje de resistencia a los antibióticos en comparación de *Sau*, en el estudio SVG solo reporta el 3.33% de las cepas resistentes a los macrólidos. En estudios realizados por Sánchez y colaboradores muestran como *Streptococcus mutans* presenta resistencia a la amoxicilina donde se muestra que de 200 individuos el 5.5% los cuales dan como positivo para portadores de cepas resistentes a amoxicilina. En otro estudio realizado por Portillo muestra que SVG tiene resistencia a los antibióticos del grupo de los macrólidos muestra que los genes que se encargan de la codificación de las enzimas que dan la resistencia son el *ermA*, *ermB*, *mefA*,⁷ de igual forma en la investigación dando como resultado la resistencia a los macrólidos como se ve en la tabla No 10. Esto puede indicar que los antibióticos que se usan son eficaces, pero han empezado a adquirir una resistencia significativa para la salud pública que en un futuro puede generar grandes problemas de control de estas cepas resistentes. Adicionalmente SVG presenta porcentajes muy bajos en resistencias, WT: 96.7%, BLAC: 0%, MR: 0%, M+: 3.33%, L+: 0%, S+: 0%, MLS+: 0%, GenR: 0%, STHR: 0%, GHR: 0%.

El trabajo realizado por Muentes en el 2022, logra corroborar la resistencia de SVG hacia la clindamicina, al obtener datos de resistencia relevantes de 16,1% de muestras obtenidas de la cavidad oral y de sangre periférica, y un porcentaje de sensibilidad a diversos antibióticos de 93,6%⁴³. De la misma forma Leszczynski et al en 2019 comparó la susceptibilidad de SVG a ampicilina, bencilpenicilina, clindamicina y la vancomicina. Se concluyó el mayor porcentaje de resistencia corresponde a la clindamicina y una gran sensibilidad a la vancomicina y ampicilina.⁴⁴

10. CONCLUSIONES

- 10.1. *Sau* es el microorganismo que presenta un mayor porcentaje de multiresistencia en comparación a SVG y *Efa*, esto se debe a que durante las últimas décadas ha adquirido genes de resistencia a los diferentes antibióticos usados en los tratamientos para controlar las infecciones todo esto gracias a la adquisición de genes por transferencia horizontal o por mutaciones del mismo microorganismo frente a los tratamientos por uso y por automedicación.
- 10.2. SVG presentan el porcentaje de resistencia muy bajo, esto se puede deber a que las cepas de los portadores no han desarrollado o adquirido los genes que les da la resistencia a los antibióticos usados en los procedimientos de odontología, pero esto no indica que no lo pueda presentar en un futuro.
- 10.3. *Efa* en comparación a SVG si presenta más resistencia en otros grupos de antibióticos nombres, pero no supera el 15% de resistencia. Esto indica que poco a poco está adquiriendo los genes que le otorgan la resistencia a los diferentes antibióticos usados para controlar y contrarrestar las infecciones.
- 10.4. Los antibióticos que se están utilizando en los tratamientos para la prevención y el control de las infecciones en los procedimientos odontológicos estas mostrando bajos porcentajes de sensibilidad, lo que indica que las cepas presentes poco a poco estas obteniendo estos genes de resistencia sea por transferencia horizontal o mutación del genoma mismo.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1. Como una recomendación teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la investigación, se sugiere que antes de iniciar cualquier procedimiento odontológico en pacientes de alto riesgo de otras enfermedades como Endocarditis, realizar un panel de resistencia para poder identificar si el paciente al cual se está tratando es portador de cepas que presente resistente a los antibióticos, esto con el fin de identificar si en la microbiota tiene cepas con resistencia o multiresistencia a los diferentes antibióticos que se usan en la odontología, esto con el fin de mirar que otros antibióticos se puede usar para controlarlo eliminar estas cepas y evitar seguir exponiendo a las cepas multirresistentes a los mismo antibiótico y que sigan aumentando si resistencia y su propagación.
- 11.2. Otra recomendación importante para el área de la salud pública, se debe incluir este examen de diagnóstico que sea de conocimiento del paciente si portador de alguna de las cepas que tiene multiresistencia a los diferentes antibióticos usados en la salud y no solo en los de uso odontológico, esto con el fin que controlar y disminuir las cepas multirresistentes con estas características las cuales se puede categorizar como una pandemia silenciosa.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Cristina Moreno del Castillo, M., Valladares-García, J. & Halabe-Cherem, J. *Microbiomahumano*. vol. 61 (2018).
2. Jonathon L. Baker, Batbileg Bor, Melissa Agnello, Wenyuan Shi, Xuesong He. Ecology of the oral microbiome: beyond bacteria. *Trends Microbiol.* 2017 May; 25(5): 362-374.
3. Margarita, S. et al. *Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal Microbiota of oral cavity ecosystems. Rev Cubana Estomatol* vol. 54 <http://scielo.sld.cu><http://scielo.sld.cu> (2017).
4. Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I. & Dewhirst, F. E. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of Clinical Microbiology* **43**, 5721–5732 (2005).
5. Calvo, J. & Martínez-Martínez, L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* **27**, 44–52 (2009).
6. Cataldo Russomando, K. et al. ARTÍCULO ORIGINAL Carriage of Multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in the Oral Cavities of Children Presenting for Treatment at a Dental Clinic in Paraguay (1) (1) (2) (2). *Pediatr. (Asunción)* vol. 3 (2014).
7. Barrientos Sánchez, S., Serna Varona, F. S., Díez Ortega, H. & Rodríguez Ciódaro, A. Resistencia a la amoxicilina de cepas de *Streptococcus mutans* aisladas de individuos con antibioticoterapia previa y sin esta / Amoxicillin Resistance of *Streptococcus mutans* Isolated from Individuals with and without Antibiotic Therapy. *Universitas Odontologica* **34**,101 (2015).
8. Panesso, D. et al. Molecular epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: A prospective, multicenter study in South American hospitals. *Journal of Clinical Microbiology* **48**, 1562–1569 (2010).
9. Peruana, A. M. et al. *La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio Resistance to antibacterial agents: A serious problem. Acta Med Peru* vol. 36 (2019).
10. Margarita, S. et al. *Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal Microbiota of oral cavity ecosystems. Rev Cubana Estomatol* vol. 54 <http://scielo.sld.cu><http://scielo.sld.cu> (2017).
11. Kavya, U. R., Laxmi, S. & Ramkumar, V. Effect of intravenous dexmedetomidine administered as bolus or as bolus-plus-infusion on subarachnoid anesthesia with hyperbaric bupivacaine. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology* **34**, 46–50(2018).
12. Cardona-castro, N. cavidad oral a través de la metagenómica Revisiones Tema RevisionesTema. *revissta Ces odontologia* **28**, 112–118 (2015).

13. Silverti B. Guía de Anatomía Oral y Dental Anatomía oral y dental. *Medical Group* **1**, 30(2017).
14. Barrientos Sánchez, S., Serna Varona, F. S., Díez Ortega, H. & Rodríguez Cíodaro, A. Resistencia a la amoxicilina de cepas de *Streptococcus mutans* aisladas de individuos con antibioticoterapia previa y sin esta / Amoxicillin Resistance of *Streptococcus mutans* Isolated from Individuals with and without Antibiotic Therapy. *Universitas Odontologica* **34**,101 (2015).
15. Gao, L. *et al.* Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein and Cell* **9**, 488–500 (2018).
16. Centeno Vargas, N. M., & Orias Vásquez, M. M. Endocarditis infecciosa. *Revista Médica Sinergia*, 5(12), e615. (2020).
17. Pardo Romero, Fredy F., & Hernández, Luis J. Enfermedad periodontal: enfoques epidemiológicos para su análisis como problema de salud pública. *Revista de Salud Pública*, 20(2), 258-264. (2018).
18. Morales Miranda, Liz, & Gómez Gonzáles, Walter. Caries dental y sus consecuencias clínicas relacionadas al impacto en la calidad de vida de preescolares de una escuela estatal. *Revista Estomatológica Herediana*, 29(1), 17-29. (2019).
19. Catalá Pizarro M. y Cortés Lillo O. La caries dental: una enfermedad que se puede prevenir. *Anales de Pediatría Continuada*. vol. 12. issue 3. pp: 147-151. (2014).
20. Castillo Toledo, L., Nazario Dolz, A., & Rodríguez Fernández, Z. Tratamiento del absceso odontógeno submandibular y del espacio bucal. *Revista Cubana de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello*, 5(2). (2021).
21. Hernández Millán, Ana, Hernández Millán, Zenia, Martínez de la Cotera Molina, Regla, Diego Cobelo, Mercedes, Ferrer Vilches, Diosky, & Sexto Delgado, Nora. Comportamiento clínico epidemiológico del absceso dentoalveolar agudo en pacientes pertenecientes al área VII de Cienfuegos. *MediSur*, 13(1), 25-32. (2015).
22. López-Velandia, D. P., Torres-Caycedo, M. I. & Prada-Quiroga, C. F. Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: Impacto en la salud pública en Colombia Resistance genes in gramnegative bacilli: Impact on public health in Colombia. *Revista Universidas y Salud* **18**, 190– 202 (2015).
23. Salinas Miranda E., Cifuentes L.K., Vélez J.G., & Pinzón B.A. Enfoque inicial de las alteraciones mediastinales: revisión de sus referencias anatómicas radiográficas. *Revista Colombiana de Cardiología*. Vol. 25. Núm. 6. páginas 380-395 (Noviembre - Diciembre 2018).

24. Deu Marín M. Factores de riesgo de mortalidad en la mediastinitis aguda. Tesis Doctorado en Medicina. Universidad Autónoma de Barcelona. Departamento de Cirugía. (2008).
25. Al-Nawas, B., med dent, med, Ziegler, A., nat, rer & Ziegler, A. *Odontología general 252 Los antibióticos en odontología*.
26. Patricio, I.-Í., Karen, G.-P., Gissell, C.-A. & Andrea, O.-H. *ANTIBIOTICS INDICATED IN DENTISTRY. Revista OACTIVA UC Cuenca* vol. 4 (2019).
27. Suarez C. & Gudiol F. Antibióticos betalactámicos. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Vol. 27. Núm. 2. páginas 116-129 (Febrero 2009)
28. Cedillo Villamagua M.E., Delgado Olmedo D.T. Conocimiento de los odontólogos del área urbana de Cuenca sobre los antibióticos. Tesis de grado. Universidad de Cuenca. Facultas de Odontología. (2018).
29. Bennett J, Dolin R, Blaser M. Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica. 8va ed. Vol. 1. España: Elsevier. 4968 p. (2016).
30. Caviglia, I., Techera, A. & García, G.. Terapias antimicrobianas en infecciones odontogénicas en niños y adolescentes. Revisión de la literatura y recomendaciones para la clínica: Literature review and clinical recommendations. *Odontostomatología*, 18(27), 4-15. (2016).
31. Machado Oliveira J.C., José F. Siqueira J.F. & Rôças N.I. Consideraciones sobre el uso de antibióticos en Endodoncia. *Acta odontológica Venezolana*. Vol 50. No. 2. (2012).
32. Méndez-Mena, R.; Méndez-Mendoza, A.; Torres-López, J. E. Antibioticoterapia en odontología: ¿Uso racional o indiscriminado? *Salud en Tabasco*, vol. 19, núm. 2, mayo-agosto, pp. 62-65. (2013).
33. Segura, J. C., Coriat, J. Y. & Diez, H. Extended spectrum beta-lactamases (esbl) frequency in *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* and isolated *Escherichia coli* of patients hospitalized at a III-level clinic in Infecciones respiratorias View project Molecular Characterización KMP11 View project. (2015) doi:10.21500/2248468X.2285.
34. *Phenotypes and mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides in Streptococcus agalactiae isolates with clinical significance in an eight-year period*. (2002).
35. Balows, A. Manual of clinical microbiology 8th edition. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* **47**, 625–626 (2003).
36. Seguel, N., Quezada-Aguiluz, M., González-Rocha, G., Bello-Toledo, H. & Sánchez-

- Sanhueza, G. *Antibiotic Resistance of Enterococcus faecalis from Persistent Endodontic Infections Resistencia Antibiótica de Enterococcus faecalis Provenientes de Infecciones Endodónticas Persistentes Antibiotic resistance of Enterococcus faecalis from persistent endodontic infections. Int. J. Odontostomat* vol. 14 (2020).
37. De Colsa Ranero, A. Staphylococcus aureus: De la genómica a la clínica. *Enfermedades Infecciosas en Pediatría*, Vol. 24, No 95, (2011).
38. Pineda Higueta, S. E., Posada López, G. A., Giraldo Quintero, L. & Pulgarín Bedoya, L. Resistencia a antibióticos del Staphylococcus aureus en estudiantes de una facultad de odontología. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 19(6), e2931. (2020).
39. Mobili –Rocaro D., Falcón D. & Rodríguez M. Staphylococcus spp. en bolsas periodontales de un grupo de pacientes que acuden a un Centro Odontológico del Municipio San Diego, Estado Carabobo. *Kasmera*, vol. 45, núm. 1, pp. 16-23, (2017).
40. Abranches J, Zeng L, Kajfasz JK, Palmer SR, Chakraborty B, Wen ZT, et al. Biology of Oral Streptococci. *Microbiol Spectr.* ;6(5). (2018)
41. Alfaro SP, Prevalencia de Streptococcus del Grupo viridans en superficies dentarias de Infantes entre 6 a 24 meses atendidos en un Hospital de Ferreñafe – 2014. *Rev. Salud & Vida Sipanense*. Vol. 2/N°1. ISSN 2313-0369/2015. (2015).
42. Carrero Martínez, C., González Gilbert, M. C., Martínez Lapiolo, M. A., Serna Varona, F., Díez Ortega, H. & Rodríguez Ciodaro, A. BAJA FRECUENCIA DE Enterococcus faecalis EN MUCOSA ORAL DE SUJETOS QUE ACUDEN A CONSULTA ODONTOLÓGICA. *Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia*, 26(2), 261-270. (2015).
43. Muentes Castro A.P.T. Amizaje de susceptibilidad a clindamicina en streptococcus del grupo Viridans. Tesis de grado. Universidad del Bosque. (2022).
44. Leszczynski P, Sokol-Leszczynska B, Mlynarczyk A, Sawicka-Grzelak A, Mlynarczyk G. An Analysis of Resistance Patterns of Oral Streptococci Obtained from Orofacial Infections Against Beta-lactams, Clindamycin and Vancomycin over 2014-2018. *Oral Health Prev Dent*. 17(6):585-9. (2019).