



**EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DE *Streptococcus mutans* A CONCENTRACIONES
SUBINHIBITORIAS DE AMOXICILINA**

Diana Carolina Montoya Pulido

TRABAJO DE GRADO

**Presentado como requisito parcial para optar por al título de
BACTERIOLOGA**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS
PROGRAMA BACTERIOLOGIA
BOGOTA 2012**





**EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DE *Streptococcus mutans* A CONCENTRACIONES
SUBINHIBITORIAS DE AMOXICILINA**

Diana Carolina Montoya Pulido

APROBADO

Dr. Ingrid Schuler García, Ph.D.
Decana académica
Facultad de ciencias

Dr. Diana Patiño C., MSc.
Directora
Carrera de Bacteriología





**EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DE *Streptococcus mutans* A CONCENTRACIONES
SUBINHIBITORIAS DE AMOXICILINA**

Diana Carolina Montoya Pulido

APROBADO

Dr. Hugo Diez Ortega, Ph.D

DIRECTOR

Dra. Margarita Chaves Clavijo, Bact, M.Sc

CODIRECTORA

Freddy Gamboa. Bact.

Centro de Investigación Odontológica- PUJ
JURADO





NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la resolución N°13 de julio de 1946

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





***A Dios por permitirme llegar a esta etapa de mi vida.
A mi familia por estar en cada paso de este largo camino,
especialmente a mis padres y hermanos por ser
el motor que me impulsa cada día.
Y a mis amigos por su apoyo incondicional.
Gracias.***

Diana Carolina Montoya Pulido.





AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecerle a Dios por que cada día llena mi vida de grandes y hermosas bendiciones y haber puesto en mi camino la oportunidad de realizar este trabajo de grado.

A la Pontificia Universidad Javeriana particularmente al Centro de investigación Odontológica y a cada uno de sus trabajadores por abrirme sus puertas y recibirme con gran afecto permitiéndome hacer uso de sus instalaciones y equipos, brindándome toda su colaboración en todo este proceso.

A la Doctora Margarita Chaves Clavijo por toda la confianza depositada en mí brindándome la oportunidad de hacer parte de este proyecto y por compartir sus valiosos conocimientos.

Al Doctor Hugo Diez por su dedicación, paciencia, apoyo, constante acompañamiento, por todas sus enseñanzas e incondicional guía para culminar satisfactoriamente este trabajo de grado.

A mi familia y amigos por acompañarme en cada paso de este camino, por no dejarme desfallecer y porque en cada momento difícil me dieron la mano o una palabra de aliento que me fortaleció e impulso para culminar este sueño.





RESUMEN

Los *Streptococcus* del grupo *viridans* son habitantes de la microbiota oral, donde cumplen un importante papel como flora comensal que previene la colonización de patógenos potenciales al competir metabólicamente con ellos por sustratos, mantienen el equilibrio de la flora normal y bloquean los receptores celulares para patógenos orales (Groppo y Colaboradores, 2005). La diversidad de microorganismos que pueden colonizar la cavidad oral hace que se genere un mayor riesgo para el desarrollo de patologías periodontales y caries.

La caries uno de los problemas de salud mas desatendidos, donde a pesar de conocer su etiología (*Streptococcus mutans*) y tener a disposición todo el conocimiento de cómo enfrentarla ya sea por un tratamiento mecánico-quirúrgico o la antibiótico-terapia. El tratamiento antibiótico normalmente se da de forma empírica, basado en la gravedad del cuadro clínico, lo cual trae como consecuencia la refractariedad total o parcial al tratamiento debido entre otros a la aparición de microorganismos resistentes o incluso multirresistentes a los antibióticos (Berini, 1999 y Dubreil 1994), aun sabiendo esto no se ha podido superar el desarrollo de la caries en nuestra población.

Con el fin de establecer si el *S. mutans* aislado de cavidad oral de individuos sistémicamente sanos, genera resistencia a amoxicilina a concentraciones subinhibitorias, se diseñó un modelo experimental en el cual se evaluó la resistencia de *S. mutans* a concentraciones subinhibitorias de 0.001 y 0.002 µg/ml, encontrándose que ninguna de las cepas testeadas expresó resistencia a dichas concentraciones. Los resultados obtenidos nos permiten inferir que al menos para las cepas analizadas la resistencia está definida más por la difusión del antibiótico In vivo y no por la expresión de mecanismos de resistencia de la bacteria. Igualmente para verificar dicho dato es necesario replantear un nuevo modelo de estudio que permita verificar si dichas cepas In vivo son aisladas de pacientes refractarios a tratamientos.





EVALUACION DE LA RESISTENCIA DE *Streptococcus mutans* A CONCENTRACIONES SUBINHIBITORIAS DE AMOXICILINA

Contenido

| | |
|--------------------------------------|----|
| 1. INTRODUCCIÓN | 9 |
| 2. PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN | 10 |
| 3. MARCO TEÓRICO | 11 |
| 4. OBJETIVOS | 13 |
| 4.1. Objetivo general | 13 |
| 4.2. Objetivos específicos | 13 |
| 4.2.3. Hipotesis | 13 |
| 5. METODOLOGIA | 14 |
| 6. RESULTADOS | 15 |
| 7. DISCUSION | 17 |
| 8. CONCLUSIONES | 20 |
| 9. RECOMENDACIONES | 20 |
| 10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS | 22 |





1. INTRODUCCIÓN

La diversidad de microorganismos que pueden colonizar la cavidad oral hace que se genere un mayor riesgo para el desarrollo de patologías periodontales y caries. El *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) es un habitante de la microbiota oral que constituye la primera causa de caries dental. En pacientes con casos de infecciones odontogénicas, el odontólogo generalmente inicia un manejo o tratamiento con antibiótico que permita acabar con el proceso infeccioso; en referencias bibliográficas se ha encontrado que el antibiótico de elección es la amoxicilina, en casos más severos penicilina y algunas veces utilizan la Clindamicina o Cefalosporinas como otra alternativa, esto con el seguimiento de protocolos hospitalarios.

La amoxicilina es un derivado semisintético de la penicilina que pertenece al grupo de antibióticos beta-lactámicos. Tienen una actividad antibacteriana de amplio espectro contra Gram positivos y Gram negativos, actuando sobre la biosíntesis del péptidoglicano de la pared celular. Este antibiótico se absorbe rápidamente por vía oral y se distribuye bien por todos los tejidos (hígado, riñones, pulmones, encéfalo, duodeno y glándulas suprarrenales) donde finalmente es excretado vía renal. Por su mejor absorción aun en presencia de alimentos y menos efectos secundarios, la amoxicilina prácticamente reemplazó a la ampicilina en los tratamientos por vía oral y se utiliza como primera elección en infecciones dentales. Sin embargo, la amoxicilina es sensible a la degradación por beta-lactamasas y por tanto, su uso no controlado como sucede en la autoformulación que hacen los pacientes, o el uso indiscriminado para otras patologías no orales, pueden conllevar a estimular en la bacteria mecanismos de resistencia al antibiótico, y dado que los puntos de corte para MIC (Concentración inhibitoria mínima) pueden variar de una casa comercial a otra o de la metodología empleada, esta resistencia se puede estar interpretando erróneamente ya sea porque los puntos altos de cortes la subdiagnostican o los puntos bajos de corte la sobredimensionan.

Con este estudio de tipo experimental se pretende evaluar la resistencia del *S. mutans* frente a concentraciones subinhibitorias de amoxicilina y determinar si la resistencia es por producción de enzimas beta lactamasas, con el fin de aportar datos que se puedan usar para implementar métodos de formulación y administración efectivos de este antibiótico para disminuir considerablemente el desarrollo de microorganismos resistentes.





2. PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Las infecciones odontogénicas como caries, pulpitis, absceso periodontal, gingivitis, periodontitis y pericoronaritis son patologías frecuentes en la consulta odontológica constituyendo la principal causa de pérdida de dientes en los pacientes. Su tratamiento requiere la combinación de procedimientos odontológico/quirúrgicos y en algunas ocasiones farmacológicos. La elección del antibiótico para el tratamiento farmacológico es empírica basándose en criterios epidemiológicos en función del cuadro clínico y las bacterias implicadas, siendo la Amoxicilina el antibiótico de rutina que se emplea actualmente. La eficacia del antibiótico empieza a ser cuestionada pues cada día se encuentra un mayor número de pacientes refractarios al tratamiento. La refractariedad puede estar dada por características farmacocinéticas de difusión del antibiótico en el tejido que no logra alcanzar niveles adecuados en puntos concretos en donde se localiza la infección, así como por mecanismos de resistencia propios del microorganismo, razón por la cual muchos protocolos han cambiado la amoxicilina por Clindamicina o la usan unida a un inhibidor de betalactamasas como el ácido clavulánico (Bascones y col, 2004). Dentro de los agentes etiológicos reportados con resistencia al antibiótico están los *Streptococcus* del grupo *viridans*; *mutans*, *sobrinus*, *sanguis*, microorganismos implicados en la etiología de las infecciones odontogénicas y que presentan un riesgo de mayor impacto y gravedad para patologías sistémicas como la endocarditis bacteriana (Grosso y Colaboradore, 2005). La resistencia al antibiótico puede ser inducida en los microorganismos por medio del uso indiscriminado de antibióticos, la automedicación y la aplicación de dosis subclínicas que logran estimular los mecanismos de resistencia en las bacterias. Este trabajo pretende verificar si concentraciones subinhibitoria de Amoxicilina de 0.001-0.002 $\mu\text{g}/\text{ml}$ logran *In vitro* inducir resistencia a cepas de *S. mutans* tipificadas inicialmente sensibles.





3. MARCO TEÓRICO

3.1 La cavidad oral

La cavidad oral está compuesta por más de 500 especies bacterianas que incluyen cocos Gram positivos, bacilos Gram positivos, bacilos Gram negativos, flora aeróbica y flora anaeróbica. En la Tabla 1 se recogen los microorganismos de mayor interés odontológico, (Prieto-Prieto J, Calvo A, 2004). Esta gran variedad de microorganismos se aloja en distintos nichos ecológicos que coexisten en cada uno de los sitios anatómicos que les proveen las condiciones medioambientales necesarias para su desarrollo. Esta misma variedad y cantidad de microorganismos, implica un mayor riesgo de infecciones odontogénicas como caries, pulpitis, absceso periodontal, gingivitis, periodontitis y pericoronaritis, las cuales son patologías que inician con la formación de un biofilm, daño y lesión del diente, daño de tejidos pulpares y periodontales, que al progresar invaden espacios óseos y faciales profundos afectando notablemente la salud oral del individuo, siendo estas la principal causa de pérdida de dientes en pacientes menores de 35 años.

Tabla 1. Bacterias odontogénicas.

| Aerobias | Nº aislados | Anaerobias | Nº aislados |
|-------------------------------|-------------|---------------------------------|-------------|
| <i>Streptococcus viridans</i> | 139 | <i>Peptostreptococcus</i> | 105 |
| <i>Staphylococcus</i> | 9 | <i>Prevotella pigmentada</i> | 93 |
| <i>Corynebacterium</i> | 9 | <i>Fusobacterium</i> | 90 |
| <i>Campylobacter</i> | 9 | <i>Prevotella no pigmentada</i> | 56 |
| <i>Neisseria</i> | 8 | <i>Gemella</i> | 36 |
| <i>Actinomyces</i> | 7 | <i>Porphyromonas</i> | 35 |
| <i>Lactobacillus</i> | 6 | <i>Bacteroides</i> | 14 |
| Otros | 13 | Otros | 35 |
| Total | 200 | Total | 464 |

Adaptado de Prieto – Prieto J, Calvo A 2004. Bases microbiológicas en las infecciones bucales y sensibilidad en los antibióticos. Medicina oral 9, 8-11.





3.2 Consideraciones microbiológicas

Aunque la mayoría de las infecciones odontógenas ya nombradas se caracterizan por ser: polimicrobianas, endógenas, oportunistas, dinámicas y mixtas (aerobias/anaerobias), en general más del 65% de los especímenes aislados son anaerobios obligados, presentando una mayor prevalencia. La mayoría de los anaerobios aislados en las infecciones odontógenas son sensibles a penicilinas, eritromicina, clindamicina, doxiciclina y metronidazol, aspecto que no es observado en las bacterias aerobias. La resistencia de las bacterias aerobias frente a los distintos agentes antimicrobianos está aumentando, debido principalmente a su utilización como medidas profilácticas antes de determinados procedimientos bucodentales (Kuriyama T. y col, 2002). Por este motivo, pocos antimicrobianos continúan presentando la misma actividad frente a los *Streptococcus* orales (patógenos aerobios mayoritarios en la cavidad bucal). Se ha visto que los *Streptococcus del grupo viridans* presentan una prevalencia creciente de la resistencia frente a determinados agentes antimicrobianos, principalmente los mácrolidos (porcentajes entre el 35%-70%), pero también frente a penicilina y clindamicina (10%-15%) siendo esto una problemática de salud, por ende es importante potenciar la continua actualización sobre los agentes antimicrobianos por medio de estudios epidemiológicos de sensibilidad y la adecuada utilización de aquellos a fin de evitar efectos secundarios o colaterales.

3.3 Tratamiento

El tratamiento odontológico se basa en la eliminación del problema y muchas veces requiere la combinación de procedimientos mecánico-quirúrgicos y farmacológicos aunque este último no siempre es necesario, la elección del antibiótico se hace de forma empírica basándose en criterios epidemiológicos como son: el cuadro clínico del paciente, los microorganismos implicados en la patología y la sensibilidad que estos tienen al antibiótico (Rodríguez E, 2009). Por esto es de gran importancia realizar un diagnóstico preciso y así mismo conocer el tratamiento antibiótico indicado para cada cuadro que se presente. Teniendo en cuenta que estas infecciones pueden ser mixtas, los antibióticos de elección para el manejo de infecciones odontógenas son: Amoxicilina, y Amoxicilina - ácido clavulánico y como alternativa Clindamicina (Bascones y Manso, 1993). Sin embargo, en los últimos años la amoxicilina se está viendo relegada a un segundo plano como consecuencia del incremento del número de bacterias productoras de betalactamasas, enzimas capaces de hidrolizar las penicilinas y de ocasionar por lo tanto fracaso terapéutico. Entre las principales bacterias productoras de betalactamasas que podemos encontrar en la cavidad oral destacan *Porphyromonas spp*, *Prevotella spp*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens*, *Bacteroides spp*. y *Staphylococcus*





resistentes (Liñares J, 2003) y recientemente en cepas de *Streptococcus* del grupo *viridans* incluyendo *S. mutan*, también se ha notificado la existencia de cepas resistentes a la penicilina y la frecuencia de aislamientos clínicamente significativos resistentes a este β -lactámico, siendo esto un fenómeno creciente caracterizado por la refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico. La resistencia a los agentes antimicrobianos puede adquirirse por mutaciones, por modificaciones enzimáticas o por transferencia de material genético de una bacteria a otra por transducción, transformación, o conjugación (Caviedes J y col, 2008) y para expresarse necesita ser inducida por la presencia del antibiótico. Se considera que dentro de las causas de inducción a la resistencia está el uso indiscriminado de los antibióticos, la automedicación y la exposición de la bacteria a concentraciones extremadamente bajas, a veces menores de 0.01 microgramos/mililitro, las cuales son altamente específicas en su acción sobre actividades metabólicas o estructurales de ciertas bacterias y no hacia las células del huésped; la amoxicilina ha sido efectiva en la medida en que se requieren concentraciones inhibitorias mínimas contra estreptococos y anaerobios, que oscilan entre 0.01 y 0.05 microgramos/ml lo que le da un buen espectro de actividad dada su potencia relativa, varios estudios demuestran que la exposición de la bacteria a dosis tan bajas del antibiótico genera un estímulo que permite la expresión de genes que conllevan a la resistencia (Kuriyama y col, 2007). Este trabajo busca verificar *In vitro* si a cepas aparentemente sensibles de *S. mutans* se induce resistencia a Amoxicilina al enfrentarlas a concentraciones subinhibitorias (0.001 Y 0.002 $\mu\text{g/ml}$) del antibiótico.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

- 4.1.1. Establecer si el *S. mutans* aislado de cavidad oral de individuos sistémicamente sanos, genera resistencia a amoxicilina a concentraciones subinhibitorias (0.001 y 0.002 $\mu\text{g/ml}$).

4.2. Objetivos específicos

- 4.2.1. Verificar *In Vitro* la inducción de resistencia a Amoxicilina en cepas de *S. mutans* tipificadas como sensibles a dicho antibiótico.
- 4.2.2. Determinar la concentración subinhibitoria con la cual se induce resistencia en cepas tipificadas como sensibles.

4.2.3. Hipótesis

- 4.2.3.1. Es posible inducir resistencia a *S. mutans* con dosis subclínicas (0.001 Y 0.002 $\mu\text{g/ml}$) de Amoxicilina.





5. METODOLOGIA

5.1. Diseño

Estudio de tipo experimental.

5.2. Población en estudio

5.2.1. Para cumplir con los objetivos mencionados, se realizó un estudio experimental en el que se utilizaron 41 cepas congeladas de *S. mutans*, aisladas de individuos sistémicamente sanos, inicialmente tipificadas como sensibles a la Amoxicilina.

5.3. Variables

| Variable | Unidad de medición | Clasificación |
|---|---|---------------------|
| Dependiente Susceptibilidad antimicrobiana | Diámetro del halo (mm) | Cualitativa Nominal |
| Independiente Concentración de Amoxicilina | Microgramos/mililitro ($\mu\text{g/ml}$) | Cuantitativa razón |

5.4. Procedimiento

5.4.1. Muestra: se tomaron las 41 cepas de *S. mutans* congeladas y tipificadas como sensibles a amoxicilina por medio de la técnica Kirby Bauer, se llevaron a la incubadora por un tiempo aproximado de 30 segundos a 1 minuto para su descongelación, una vez descongeladas se recuperaron en 5ml de medio líquido BHI, se incubaron a 37°C por 48 horas.

5.4.2. Una vez recuperadas las cepas de *S. mutans* se procedió a:

5.4.2.1. *Inducción de resistencia*: inicialmente se realizó la preparación del caldo BHI con dos concentraciones de amoxicilina de 0.001 microgramos / ml y 0.002 microgramos/ml, una vez preparado el caldo BHI con la concentración correspondiente del antibiótico, se procedió a realizar el inóculo de cada una de las 41 cepas de *S. mutans* a cada concentración subinhibitoria de amoxicilina (0.001 Y 0.002 $\mu\text{g/ml}$), se llevaron a incubar por 48 horas para permitir su crecimiento, una vez pasado el tiempo de incubación se centrifugaron, se eliminó el sobrenadante, y finalmente se adicionó nuevamente medio BHI con la concentración de antibiótico correspondiente (0.001 Y 0.002 $\mu\text{g/ml}$), se llevaron a incubar por otras 48 horas, este mismo procedimiento se realizó durante un periodo de 15 días consecutivos.





NOTA: las 41 cepas de *S.mutans* fueron sometidas a inducción de resistencia 7 veces, siguiendo el procedimiento ya mencionado.

5.4.2.2. Evaluación de la susceptibilidad

Finalmente se evaluó la susceptibilidad de las 41 cepas a la amoxicilina, esto se hizo por medio de sensidiscos de amoxicilina. Se utilizaron placas de Agar Mueller Hinton, las cuales se llevaron a temperatura ambiente antes de inocular, se tomaron cada una de las 41 cepas de *S.mutans* inducidas a resistencia en caldo BHI y se sembraron de forma masiva sobre la placa de agar Mueller Hinton, se colocaron los sensidiscos de amoxicilina con una pinza estéril sobre el agar, después se llevaron a incubar por un periodo de 16 a 18 horas.

5.4.2.3 Lectura

Para leer los halos se observaron las placas sobre un fondo oscuro e iluminado, se midieron los halos de inhibición del crecimiento producido por los sensidiscos en milímetros. Comparamos los halos de inhibición con las tablas de la CLSI y así se determino la sensibilidad o resistencia del microorganismo al agente antimicrobiano.

“Las cepas con halo de inhibición mayor de 18 mm, se consideraron sensibles.”

5.5. *Análisis de resultados:* los resultados se presentaron de manera descriptiva y en porcentajes. Porcentaje de cepas donde la inducción es positiva, porcentaje de cepas resistentes a las concentraciones de amoxicilina.

6. RESULTADOS

Recuperación de las cepas

Se seleccionaron 41 cepas de *S. mutans* tipificadas inicialmente como sensibles a la amoxicilina, aisladas de individuos sistémicamente sanos, estas cepas fueron recuperadas en su totalidad en caldo BHI.

Inducción de resistencia

Para cumplir con el primer objetivo se indujo resistencia en las cepas recuperadas. Los resultados obtenidos de la inducción de resistencia de las 41 cepas de *S. mutans* a concentraciones subinhibitorias de amoxicilina, al evaluar la susceptibilidad se observó 100% sensibilidad a la amoxicilina en todas las 41 cepas sometidas a inducción (Tabla 2).





Tabla 2. Susceptibilidad de las cepas de *S. mutans*

| Muestra(cepas de <i>S. mutans</i>) | Dosis 0.001 µg/ml | Dosis 0.002 µg/ml | Inducción + = 1 Inducción - = 0 |
|--------------------------------------|-------------------|-------------------|------------------------------------|
| 1E | 0 | 0 | |
| 2E | 0 | 0 | |
| 3E | 0 | 0 | |
| 4E | 0 | 0 | |
| 5E | 0 | 0 | |
| 6E | 0 | 0 | |
| 1 | 0 | 0 | |
| 2 | 0 | 0 | |
| 3 | 0 | 0 | |
| 4 | 0 | 0 | |
| 5 | 0 | 0 | |
| 6 | 0 | 0 | |
| 7 | 0 | 0 | |
| 8 | 0 | 0 | |
| 9 | 0 | 0 | |
| 11 | 0 | 0 | |
| 12 | 0 | 0 | |
| 13 | 0 | 0 | |
| 14 | 0 | 0 | |
| 15 | 0 | 0 | |
| 16 | 0 | 0 | |
| 17 | 0 | 0 | |
| 18 | 0 | 0 | |
| 19 | 0 | 0 | |
| 22 | 0 | 0 | |
| 24 | 0 | 0 | |
| 25 | 0 | 0 | |
| 26 | 0 | 0 | |
| 27 | 0 | 0 | |
| 28 | 0 | 0 | |
| 29 | 0 | 0 | |
| 30 | 0 | 0 | |
| 31 | 0 | 0 | |
| 32 | 0 | 0 | |
| 33 | 0 | 0 | |
| 34 | 0 | 0 | |





| | | |
|----|---|---|
| 36 | 0 | 0 |
| 37 | 0 | 0 |
| 38 | 0 | 0 |
| 40 | 0 | 0 |
| 41 | 0 | 0 |
| 42 | 0 | 0 |

Verificación de la resistencia

Dado que todas las cepas fueron sensibles, no se efectuó la verificación del mecanismo de resistencia enzimático.

7. DISCUSIÓN

Como primera medida es importante mencionar que en un estudio realizado inicialmente dentro de este macro-proyecto, titulado ESTUDIO DE LA RESISTENCIA DE *Streptococcus mutans* A BETA-LACTAMICOS EN UNA POBLACIÓN DE RIESGO A ENDOCARDITIS INFECCIOSA (Yady Triana, 2011), se realizó una prueba piloto en 46 individuos los cuales asistieron al servicio de Estomatología del Hospital Central de la Policía Nacional, donde en la identificación fenotípica de *S. mutans* los resultados obtenidos fue que de la población total de 46 (100%) pacientes estudiados, 27 (58%) pacientes presentaban colonias presuntivas de *S. mutans*, pero una vez realizada la identificación microbiológica solo 23 pacientes tenían *S. mutans* (50%) en su cavidad oral, y de estos 23 pacientes, 18 (78%) pacientes presentaban *S. mutans* sensibles a la amoxicilina y 5 (22%) resistentes a la amoxicilina., estos datos corroboran la importancia identificar la presencia y evaluar la susceptibilidad antibiótica de *S. mutans* aislados de cavidad oral en pacientes, por lo tanto es importante definir protocolos de profilaxis adecuados antes de realizar intervenciones invasivas.

Dentro de los resultados obtenidos en nuestro estudio, según la lectura de susceptibilidad de las cepas inducidas a resistencia con amoxicilina, todas presentaron sensibilidad a este antibiótico, de tal modo que a concentraciones subclínicas de amoxicilina (0.001 y 0.002 µg/ml) no se logra inducir una resistencia a este antibiótico. Sin embargo diversos estudios han demostrado que los *streptococcus* del grupo *viridans* incluyendo *S. mutans* han sido muy sensibles a la acción de beta-lactámicos, macrólidos, aminoglucósidos, vancomicina, rifampicina, cotrimoxazol, lincosamidas y el cloranfenicol, pero por otra parte estudios han demostrado que la saliva de sujetos sanos puede portar cepas penicilin-resistentes, productoras de beta-lactamasas (Rodríguez E, 2009).





La aparición de resistencia antimicrobiana se ha convertido en un problema clínico, epidemiológico y de salud pública ya que disminuye la efectividad de diversos tratamientos, aumenta el número de efectos secundarios, generando tratamientos con dosis más altas o con tratamientos mucho más prolongados.

En la bibliografía consultada se reportan estudios realizados principalmente sobre los microorganismos orales que se encuentran asociados al desarrollo de infecciones odontogénicas y estos muestran un incremento de la resistencia de estos microorganismos a la acción de los antibióticos, en la figura 1 y 2 se mostraran el porcentaje de cepas sensibles y resistentes que se obtuvieron en nuestros estudios y los reportados en la literatura.

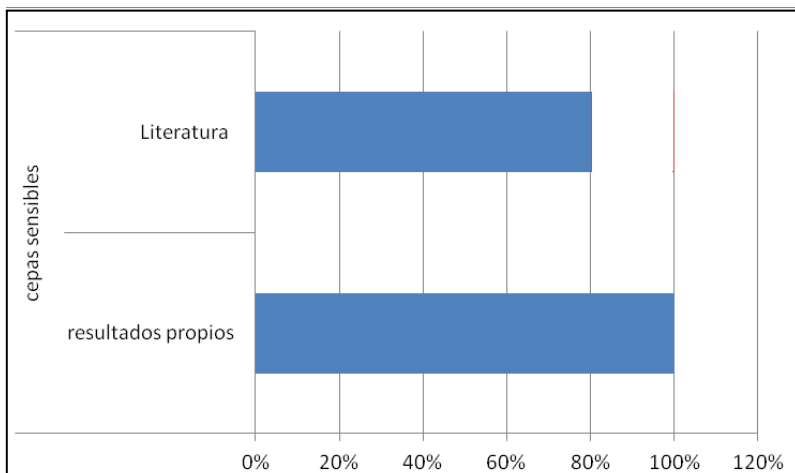


Figura 1, cepas sensibles. Datos extraídos de la literatura Maestre JR, 2007 y *Liñares J. 2003*, reportan un porcentaje de cepas sensibles a la amoxicilina es mayor al 80%, mientras que en el estudio realizado en el centro de investigación de odontología- CIO de la Pontificia Universidad Javeriana el porcentaje de cepas sensibles fue de un 100%.

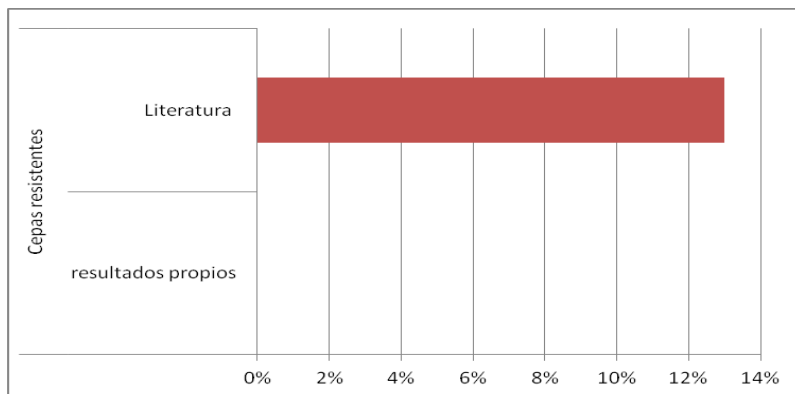


Figura 2, Cepas resistentes. Datos extraídos de la literatura Maestre JR, 2007 y *Liñares J. 2003*, reportan un porcentaje de cepas resistentes a la amoxicilina en un rango del 0% al 13%, mientras que en el estudio realizado en el centro de investigación de odontología- CIO de la Pontificia Universidad Javeriana el porcentaje de cepas obtenidas como resistentes a la amoxicilina fue del 0%.





En las siguientes figuras (fig 3 y 4) vemos la comparación entre el porcentaje de cepas resistentes y sensibles de *S. mutans*, obtenidas en el estudio inicial y este estudio.

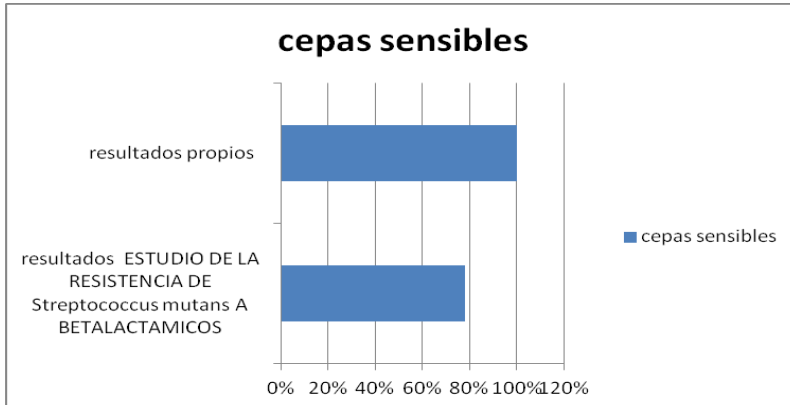


Figura 3, Cepas sensibles. Datos extraídos del trabajo de grado Yady Triana, 2011, reportan un porcentaje de cepas sensibles a la amoxicilina del 78 %; mientras que en el estudio realizado en el centro de investigación de odontología- CIO de la Pontificia Universidad Javeriana el porcentaje de cepas obtenidas como sensibles a la amoxicilina fue del 100 %.

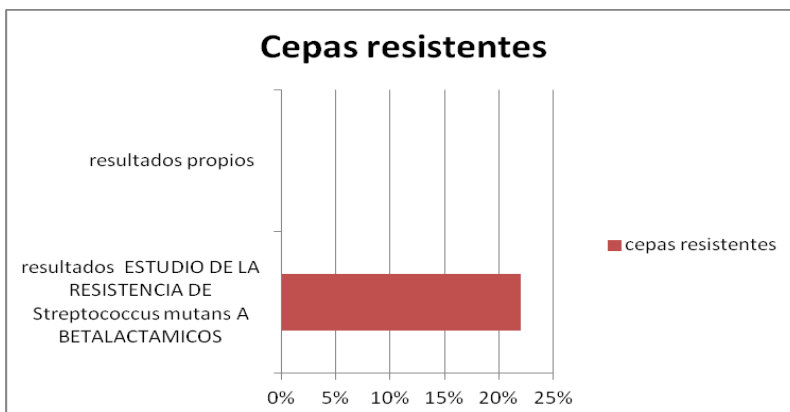


Figura 4, Cepas resistentes. Datos extraídos del trabajo de grado Yady Triana, 2011, reportan un porcentaje de cepas resistentes a la amoxicilina del 22%, mientras que en el estudio realizado en el centro de investigación de odontología- CIO de la Pontificia Universidad Javeriana el porcentaje de cepas obtenidas como resistentes a la amoxicilina fue del 0 %.

Al realizar un análisis de los resultados obtenidos y los resultados presentados en estudios reportados en la literatura y en el estudio realizado, podemos decir que existe una relación causa-efecto entre el consumo excesivo e inadecuado de antibióticos y el desarrollo de resistencia a la acción de estos; así como también se ha logrado establecer que las bacterias productoras de betalactamasas son las que se aíslan con mayor frecuencias en las infecciones odontogénicas y las que mayor asociación tienen al aumento de cepas resistentes a diversos antibióticos.





La resistencia bacteriana es un problema de salud que ha ido creciendo y se ha caracterizado por la refractariedad parcial e incluso total de los microorganismos frente al efecto de los antibióticos, lo cual se ha ido generando principalmente por el uso indiscriminado de estos.

El desarrollo de la resistencia implica un cambio genético, hereditario de generación en generación. Puede operar cualquier mecanismo que altere la composición genética bacteriana. La resistencia a los agentes antimicrobianos puede adquirirse por mutaciones, por modificaciones enzimáticas o por transferencia de material genético de una bacteria a otra por trasducción, transformación, o conjugación.

Se ha visto que el mecanismo más importante de resistencia se ha desarrollado por la inducción enzimática que generan algunas bacterias para destruir un antibiótico por ejemplo las penicilinas (B-lactamasas). Las betalactamasas son enzimas bacterianas que actúan hidrolizando el enlace amida del anillo betalactámico, con lo que el antibiótico pierde totalmente su actividad. (Caviedes J, y colaboradores, 2008)

Desde hace muchos años se ha venido describiendo la aparición de cepas resistentes a los antibióticos como las cepas de *Staphylococcus aureus* capaces de degradar la penicilina y por ende la resistencia a la meticilina y posteriormente diversos mecanismos de resistencia a los betalactámicos, aunque se trató de controlar estos mecanismos con otros medicamentos como macrólidos, aminoglucósidos y otros más, esto no ha sido suficiente ya que cada vez los microorganismos han ido generando nuevos mecanismos de resistencia, lo que hace que las infecciones causadas por bacterias multirresistentes tengan una amplia morbilidad y mortalidad y de este modo causen un aumento en los costos de los tratamientos.

Es de gran importancia ver cómo la resistencia de los microorganismos a los antibióticos se trata de un problema progresivo con tendencia a empeorar si no se toman medidas al respecto, por tal motivo es muy importante verificar la resistencia que desarrollan los microorganismos frente a la acción de diferentes medicamentos, esto con el fin de generar herramientas que ayuden a optimizar el uso de los antibióticos. Es aquí donde el laboratorio juega un papel fundamental en la tipificación de los diferentes microorganismos y en la evaluación del perfil de susceptibilidad ya que esto permitiría pasar de una terapia empírica a la terapia específica con el antibiótico indicado para el germen identificado y así disminuir la prevalencia de microorganismos resistentes o multirresistentes.

Es importante mencionar aunque en nuestro estudio no se reportaron cepas resistentes a la Amoxicilina, cuando se presentan cepas resistentes el tratamiento de elección es la amoxicilina unida a un inhibidor de betalactamasas como el ácido clavulánico, o como alternativa usan la Clindamicina.





8. CONCLUSIONES

- En las muestras aisladas de pacientes sistémicamente sanos para nuestro estudio no se encontraron cepas de *S. mutans* resistentes a la amoxicilina.
- A pesar de tener datos que hablan sobre la frecuencia y gran importancia de las infecciones odontogénicas, las recomendaciones terapéuticas que existen hasta el momento están basadas en acuerdos profesionales, documentos de consenso y no en criterios médicos basados en la evidencia.
- Los ensayos clínicos con antibióticos en patologías odontogénicas son pocos y muy heterogéneos lo que no permite establecer recomendaciones terapéuticas precisas.
- Se ha visto que la dosificación inadecuada de antibióticos es probablemente una de las razones importantes para que aumente la aparición de bacterias resistentes.
- Finalmente sería importante fomentar el ajuste del régimen de dosificación en cada situación clínica concreta para así disminuir la resistencia antimicrobiana.

9. RECOMENDACIONES

- Resultaría interesante evaluar la resistencia de *S. mutans* a concentraciones más altas de amoxicilina.
- Resultaría importante evaluar la resistencia de *S. mutans* con otros antibióticos.
- Se propone realizar el estudio con un tamaño de muestra más grande, aislada de pacientes que nunca hayan presentado refractariedad a tratamientos orales.





10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Prieto-Prieto J, Calvo A. Bases microbiológicas en las infecciones bucales y sensibilidad en los antibióticos. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2004;9: 8-11.
- Kuriyama T, Karasawa T, Nakagawa K, Yamamoto E, Nakamura S. Bacteriology and antimicrobial susceptibility of gram-positive cocci isolated from pus specimens of orofacial odontogenic infections. *Oral Microbiol Immunol* 2002;17:132-5
- Bascones A, Aguirre JM, Bermejo A, Gay-Escoda C, González-Moles MA et al. Documento de consenso sobre el tratamiento antimicrobiano de las infecciones bacterianas odontogénicas. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2004;9:363-376.
- Bascones A. medicina bucal. tercera ed. Barcelona, España: ARIEL; 2004.
- Bascones A MF. Amoxicilina/ Clavulánico vs. Espiramicina/ Metronidazol en el tratamiento de las infecciones odontogénicas agudas. 1993; 10:643.
- Caviedes J, Estevez C, Rojas P. Antibióticos en el manejo de las infecciones odontogénicas de origen endodóntico. 2008 mayo;6(61):38-52.
- Kuriyama T, Williams DW, Yanagisawa M, Iwahara K, Shimizu C, Nakagawa K, Yamamoto E, Karasawa T. Antimicrobial susceptibility of 800 anaerobic isolates from patients with dentoalveolar infection to 13 oral antibiotics. *Oral Microbiol Immunol*. 2007; 22:285-8.
- Chow AW. Infections of the oral cavity, head and neck. En: Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE. Principles and practice of Infections Diseases. New York: John Wiley & Sons, 1990: 516.
- Groppo FC, Castro FM, Pacheco AB, Motta RH, Filho TR, Ramacciato JC, Florio FM, Meehan JG. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and oral





streptococci strains from high-risk endocarditis patients. *Gen Dent* 2005; 53:410-3.

- Rodríguez E, Rodríguez M. Tratamiento antibiótico de la infección odontogénica. *Rev Terapeutica* 2009; 33(3): 69-79.
- Maestre JR, Bascones A, Sánchez P y col. Enfermedad periodontal, odontopatógenos y perfil de resistencia a los antibióticos habitualmente utilizados como tratamiento o profilaxis en odontología en España. *Rev Esp Quimioterap* 2007; 20 (1):61-67.
- Liñares J. Martín-Herrero JE. Bases farmacomicrobiológicas del tratamiento antibiótico de las enfermedades periodontales y periimplantarias. *Av Periodon Implantol.* 2003; 15(3): 139-147.
- Sussmann O. Apuntes de resistencia bacteriana, inédito, 2001. Disponible en: <http://med.javeriana.edu.co/publi/vuniversitas/serial/v43n1/0026%20Resistencia.PDF>

