Prevalencia de la resistencia bacteriana en flora bucal en niños de 4 a 8 años

Carolina Verolo*, Jimena Viera**, Laura Pivel***

Resumen

Antecedentes: Esta investigación apuntó a ser un aporte de interés para el estudio de la ecología microbiana de la cavidad bucal y al análisis de la importancia biológica del empleo de antimicrobianos. El uso de un antimicrobiano al mismo tiempo que actúa sobre el patógeno, puede modificar la composición de los gérmenes de la microflora normal.

Métodos: Se siguió un procedimiento basado en un cuestionario y en la toma de muestras de la mucosa orofaríngea y/o yugal de niños de 4 a 8 años que concurrieron a la clínica de Odontopediatría de la Universidad de la República, durante los meses de julio-agosto y diciembre de 2009.

Resultados: El 84,6% de los niños consumió antibiótico previo a la consulta. El 81,8% tomó Amoxicilina. El 89,4% lo consumió hacía más de 15 días. El 81,8% lo consumió por una semana o más.

De las cepas analizadas, resultaron sensibles a Amoxicilina 62,5%, a Eritromicina 50%, a Clindamicina 92,5%. Del estudio de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) el 72,5% fue sensible a Penicilina.

Conclusiones: En esta población de estudio no podemos objetivar que exista una correlación entre la resistencia bacteriana de S. mitis y el consumo de antibióticos.

Palabras clave:Resistencia bacteriana, S. mitis, antibióticos, niños de 4 a 8 años.

Abstract

Background: This research aims to be a contribution for the study of the microbial ecology of the oral cavity and analysis of the biological importance of antimicrobial use. The use of an antimicrobial agent while acting on the pathogen can alter the composition of the seeds of the normal microflora.

Methods: a procedure based on a questionnaire and the taking of samples of the oropharyngeal and/or jugal mucosa of children from 4 to 8 years, who attended the Clinic of Pediatric Dentistry of the Universidad de la República, during the months of July-August and December of 2009.

Results: 84.6% of the children had consumed an antibiotic previous to the appointment. 81.8% of the sample had used Amoxicillin. 89.4% more than 15 days prior to attending the clinic and 81.8% had been treated with antibiotics for one week or more. 62.5% of the analysed samples were sensitive to Amoxicillin 62.5%, 50% to erythromycin and 92.5% to Clindamycin. Of the study of the Minimal Concentration Inhibitory (MIC) 72.5% were sensitive to Penicillin.

Conclusions: In this study population it cannot be objectively determined if there is a correlation between antibiotic resistance of S. mitis and consumption of antibiotics.

Key words: bacterial resistance, S. mitis, antibiotics, children from 4 to 8 years.

Fecha recibido: 06.09.10 - Fecha aceptado: 27.10.10

^{*} Ayudante, Grado 1, Cátedra de Microbiología, Facultad de Odontología, UdelaR.

^{**} Lic. en Laboratorio Clínico, Escuela Universitaria de Tecnología Médica, UdelaR.

^{***} Ex Prof. Tit. Cátedra de Microbiología, Facultad de Odontología, UdelaR.

Introducción

Este trabajo estuvo centrado en el estudio de la flora microbiana oral de los niños de 4 a 8 años que recibieron atención odontológica en la clínica de Odontopediatría de la Facultad de Odontología. durante los meses de julio-agosto y diciembre del año 2009.

El objetivo general de esta investigación fue aportar información sobre la resistencia microbiana en flora normal oral de niños que asisten a la Clínica de Odontopediatría.

Como objetivos específicos se planteó: 1) cuantificar el número de niños que recibieron antibióticos previos a la consulta, 2) detectar la presencia de resistencia bacteriana en *Streptococcus mitis* de la flora bucal en la población objeto de estudio y 3) analizar, utilizando técnicas in vitro, la asociación de la resistencia bacteriana con el consumo previo de antimicrobianos.

Este estudio a nivel clínico es importante porque los gérmenes de la flora normal pueden advenir como patógenos pudiendo ser agentes de posibles infecciones endógenas como por ejemplo endocarditis bacteriana, bacteriemia en el paciente neutropénico. Además, se plantea como posible la transferencia de determinantes de resistencia entre gérmenes de la flora normal como *Streptococcus mitis* y patógenos primarios como *Streptococcus pneumoniae*.

El uso de los antibióticos ha tenido una repercusión muy importante en la medicina moderna por su capacidad para curar infecciones bacterianas. Sin embargo, desafortunadamente el empleo de los antimicrobianos ha favorecido la selección de poblaciones con determinantes genéticos de resistencia. Muchos patógenos bacterianos presentan en la actualidad resistencia a uno o más antibióticos de uso clínico. Esto ha generado la necesidad del desarrollo de sistemas de vigilancia de aparición de resistencias en numerosas especies patógenas y también en gérmenes de la flora normal.

La resistencia bacteriana a antibióticos es un grave problema de salud en la actualidad. Infecciones producidas por patógenos que antes eran sensibles o susceptibles a determinados antibióticos, actualmente son producidas por gérmenes resistentes. El conocimiento de los mecanismos que generan la resistencia a los diferentes antibióticos, sus determinantes genéticos y los mecanismos de transferencia, es de particular interés a los efectos de establecer profilaxis o conductas de prevención de selección de resistencia.

Su estudio es de importancia a fin de adoptar conductas para el empleo racional de antimicrobianos.

Antecedentes

Esta investigación apunta a ser un aporte de interés para el estudio de la ecología microbiana de la cavidad bucal y al análisis de la importancia biológica del empleo de antimicrobianos.

Resistencia bacteriana en la actividad clínica se puede definir como la capacidad que tiene una cepa para soportar concentraciones de un antibiótico en niveles terapéuticos (1). Dicha resistencia consiste en que las bacterias puedan adquirir diversos mecanismos de resistencia frente a los antibióticos, con la consiguiente pérdida de la eficacia terapéutica de estos medicamentos.

En la bibliografía consultada se ha observado un aumento de la resistencia en los patógenos respiratorios (2 - 4). Es un hecho de particular importancia el aumento de la resistencia en *Streptococus pneumoniae*. Este agente posee factores de agresión múltiples y es causante de graves infecciones como neumonía, otitis media, meningitis, sinusitis, endocarditis (5, 6). Los grupos etarios extremos son particularmente susceptibles a este patógeno.

Los microorganismos se pueden transmitir por contacto directo a través de la piel, mucosas, cabellos, gotitas de saliva o por contacto indirecto a través de una tercera persona o por materiales contaminados; la trasmisión salival u orofaríngea de pañuelos, vasos, lápices, juguetes, contribuyendo a una gran variedad de procesos patológicos respiratorios (2). Numerosos estudios señalan como uno de los mecanismos de adquisición de genes de resistencia, a la transferencia intermicrobiana a partir de los gérmenes a la flora normal (7, 8). Esta transferencia genética es especialmente notable entre *Streptococus pneumoniae* y *Streptococus* del grupo *viridans*, donde se ha evidenciado la transferencia entre ambos microorganismos. La

elevada exposición de los *Streptococcus* del grupo *viridans* a la penicilina y otros antibióticos Betalactámicos, ha producido las condiciones ideales para la selección de mutantes resistentes en los genes de las proteínas fijadoras de penicilinas (PFP) que las alteran y confieren la resistencia a estos antibióticos. Posteriormente se producirá el intercambio genético mediante la transferencia y transformación en *S. pneumoniae* (8).

El uso de un antimicrobiano al mismo tiempo que actúa sobre el patógeno al cual va dirigido puede modificar la composición de los gérmenes que integran la microflora normal.

Superado el proceso infeccioso que motivó el empleo del antimicrobiano pueden mantenerse modificaciones en algunos de los integrantes de la flora normal, con persistencia de información genética que codifique algún tipo de resistencia. Estos determinantes tienen potencialidad de transferencia por diversos mecanismos a los patógenos primarios que eventualmente colonicen e infecten a ese individuo. En el estudio in vitro de la sensibilidad de una cepa microbiana se puede determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM), definida como la mínima concentración de antibiótico necesaria para impedir el crecimiento de un microorganismo en condiciones normalizadas. La CIM aporta información más precisa para definir la concentración requerida con el fin de obtener éxito terapéutico. Hay una prevalencia creciente de la resistencia frente a determinados agentes antimicrobianos, como principalmente los Macrólidos, Penicilinas y Clindamicina, por diferentes mecanismos en Streptococcus del grupo viridans, fundamentalmente los Streptococcus del grupo mitis (9).

La selección de cepas con resistencia bacteriana significa un grave problema para el tratamiento de las infecciones bacterianas.

Metodología

La investigación se efectuó siguiendo un procedimiento basado en la toma de muestras de la mucosa orofaríngea y/o yugal de niños que concurrieron a la clínica de Odontopediatría de la Universidad de la República en el año 2009, durante los meses

de julio-agosto y diciembre, en el rango de edades comprendido entre 4 a 8 años.

Luego de brindar la información y de obtener el Consentimiento Informado se procedió a la realización de un cuestionario a los padres o tutores de estos niños con el fin de conocer más acerca de aspectos puntuales de su historia clínica. Se trabajó con 78 niños que ya poseían la historia clínica de la Facultad de Odontología.

- 1. Iniciales del paciente
- 2. Sexo
- 3. Fecha de nacimiento
- 4. ¿El niño ha tomado antibióticos alguna vez?
- 5. En caso afirmativo:
- ¿Cuándo fue la última toma?

Más de 15 días

Menos de 15 días.

• ¿Cuanto tiempo los tomó?

1 semana o más Menos de 1 semana Menos de 3 días

- Cual fue el último antibiótico que recibió?
- ¿Por qué razón lo tomó?

En una segunda instancia se realizó el estudio microbiológico de la flora a un subgrupo de los niños encuestados, realizándose la toma de 40 muestras por medio de un hisopo estéril colocándolo sobre la mucosa orofaríngea y/o yugal. En ese momento se sembró con el hisopo en medio mitis salivarius (medio selectivo y diferencial para *Streptococcus spp y* gérmenes relacionados) el cual se llevó a incubar a 37°C por 48 horas en condiciones de anaerobiosis.

Obtenido el crecimiento y transcurridas las 48 horas diferenciamos las posibles unidades formadoras de colonias de *S. mitis, S. salivarius, S. mutans* por su morfología macroscópica (Fig. 1). Se procedió a reaislar en agar sangre las colonias que cumplían con las características morfológicas macroscópicas del microorganismo a investigar, *Streptococcus mitis*. Las mismas fueron incubadas en condiciones de anaerobiosis a 37°C durante 48 horas (Fig. 2). Una vez desarrolladas éstas en agar sangre se realizaron las pruebas bioquímicas para así identificarlos utilizando para ello una tabla de referencia. Las pruebas bioquímicas

utilizadas fueron manitol, sorbitol, hidrólisis de la esculina, arginina para diferenciar *Streptococcus mitis* del resto de los *Streptococcus viridans* (10), y la prueba de la optoquina que lo diferencia del *Streptococcus pneumoniae* (11) (Fig. 3).

Fig. nº 1: Morfología macroscópica en medio mitis salivarius



Fig. nº 2: Morfología macroscópica en medio agar sangre.

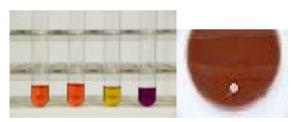


Fig. nº 3: Pruebas bioquímicas.

Por último se realizó el estudio de la sensibilidad a Amoxicilina, Eritromicina y Clindamicina de la cepa en estudio, *S. mitis.* Para ello, se trabajo con las normas estandarizadas para los estudios de sensibilidad en placa. Una vez incubado durante 24 horas a 37°C se determinó si el germen era sensible o resistente por la medición de los halos (Fig. 4), utilizando una tabla de referencia donde

se tomó para la Amoxicilina, el valor correspondiente a la Ampicilina (12).

A todas las muestras en estudio, se les realizó el E-test de Penicilina, determinando así la CIM. (Fig. 5).



Fig. nº 4. Estudio de la sensibilidad.



Fig. nº 5. Prueba de E-test (CIM).

Resultados

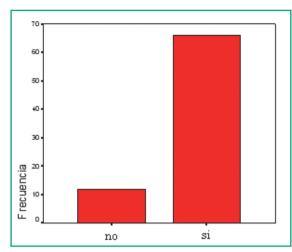
Del cuestionario realizado de cada uno de los ninos en estudio se obtuvieron los siguientes datos:

1. Si el niño había tomado antibióticos previo a la toma de la muestra. El resultado se presenta en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 1

	Frecuencia	Porcentaje
No	12	15,4
Si	66	84,6
Total	78	100,0

Gráfico 1

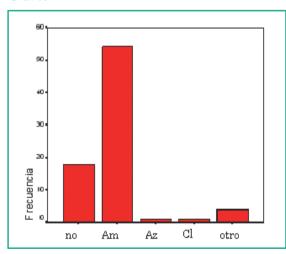


2. Los que sí tomaron antibióticos, fueron indagados sobre cual fue dicho antibiótico, resultando la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 2

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
No recuerda	6	9,1
Amoxicilina	54	81,8
Azitromicina	1	1,5
Clindamicina	1	1,5
Otros	4	6,1
Total	66	100,0

Gráfico 2



* Am: Amoxicilina, Az: Azitromicina, Cl: Clindamicina.

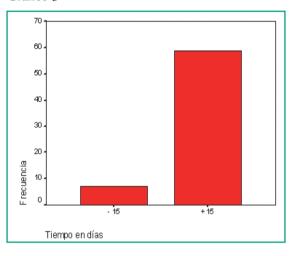
3. Se preguntó cuánto tiempo pasó desde la últi-

ma toma del antibiótico hasta ese momento, resultando la tabla y gráfico:

Tabla 3

Tiempo (días)	Frecuencia	Porcentaje
Menos de 15	7	10,6
Más de 15	59	89,4
Total	66	100,0

Gráfico 3



4. Se preguntó durante cuánto tiempo tomó el niño el antibiótico referido, obteniendo la siguiente tabla:

Tabla 4

Tiempo de toma	Frecuencia	Porcentaje
1 semana o más	54	81,8
Menos 3 dias	4	6,1
Menos 1 semana	8	12,1
Total	66	100,0

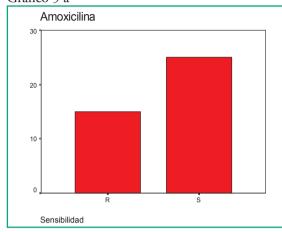
5. Para cada muestra en proceso, se realizó el estudio de la sensibilidad con discos de antibióticos Amoxicilina (ver cuadro nº 5 a y tabla nº 5 a), Eritromicina (ver cuadro nº 5 b y tabla nº 5 b) y Clindamicina (ver cuadro nº 5 c y tabla nº 5 c), obteniéndose los siguientes resultados :

• Estudio de la sensibilidad para la Amoxicilina

Tabla 5 a

Amoxicilina	Frecuencia	Porcentaje
Resistente	15	37,5
Sensible	25	62,5
Total	40	100,0

Gráfico 5 a

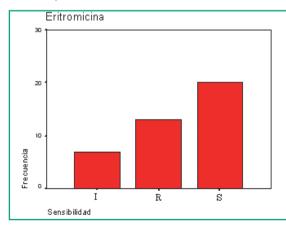


- * R: resistente, S: sensible
- Estudio de la sensibilidad para Eritromicina.

Tabla 5 b

Eritromicina	Frecuencia	Porcentaje
Intermedio	7	17,5
Resistente	13	32,5
Sensible	20	50,0
Total	40	100,0

Gráfico 5 b

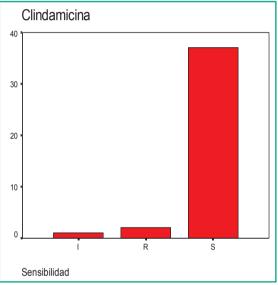


- * I: intermedio, R: resistente, S: sensible.
- Estudio de la sensibilidad para Clindamicina.

Tabla 5 c

Clindamicina	Frecuencia	Porcentaje
Intermedio	1	2,5
Resistente	2	5,0
Sensible	37	92,5
Total	40	100,0

Gráfico 5 c



* I: intermedio, R: resistente, S: sensible.

Se presenta a continuación un cuadro indicando cuantas cepas resultaron resistentes, sensibles e intermedias para cada uno de los antibióticos estudiados:

Tabla 5 d

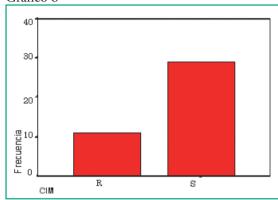
Antibiótico	Resistente	Sensible	Intemedio
Amoxicilina	15	25	0
Eritromicina	13	20	7
Clindamicina	2	37	1

6. A cada una de las cepas se le determinó la CIM para Penicilina con la técnica de E-test, resultando la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 6

	Frecuencia	Porcentaje
Resistente	11	27,5
Sensible	29	72,5
Total	40	100,0

Gráfico 6



* R: resistente, S: sensible.

- 7. A continuación se muestran tablas donde se relacionan: el tiempo que transcurrió desde la última toma y el tiempo de consumo de antibióticos con las cepas resistentes a la Amoxicilina, Eritromicina y Clindamicina respectivamente
- Cepas resistentes a Amoxicilina:

- Tiempo desde la última toma Tabla 7 a

Tiempo de toma	Frecuencia
1 semana o más	11
Menos 3 días	1
Menos 1semana	2
No tomó	1
Total	15

- Tiempo de consumo Tabla 7 b

Tiempo (días)	Frecuencia
Menos 15	2
Más 15	12
No tomó	1
Total	15

- Muestras resistentes a Eritromicina:
- Tiempo desde la última toma Tabla 7 c

Tiempo de toma	Frecuencia
1 semana o más	11
Menos 3 días	0
Menos 1 semana	2
Total	13

- Tiempo de consumo Tabla 7 d

Tiempo (días)	Frecuencia	
Menos 15	3	
Más 15	10	
Total	13	

- Cepas resistentes Clindamicina:
- Tiempo desde la última toma Tabla 7 e

Tiempo (días)	Frecuencia	
Menos 15	0	
Más 15	2	
Total	2	

- Tiempo de consumo

Tabla 7 f

Tiempo de toma	Frecuencia
1 semana o más	1
Menos 3 días	0
Menos 1 semana	1
Total	2

8. A continuación se muestra la relación entre las cepas resistentes a la Amoxicilina, Eritromicina y Clindamicina con el último antibiótico consumido por el niño:

Tabla 8

	Cepas resistentes			
Antibiótico consumido	Amoxicilina	Eritromicina	Clindamicina	
Amoxicilina	12	12	2	
Clindamicina	1	0	0	
Azitromicina	0	1	0	
Otros	1	0	0	

Análisis de resultados

De acuerdo al objetivo 1 utilizando los datos obtenidos del cuestionario realizado a cada uno de los niños, podemos observar que hay un mayor porcentaje de ellos que consumió antibióticos previo a la consulta, siendo este valor un 84,6% como se indica en el cuadro 1.

Como se muestra en el cuadro 2 de estos niños que consumieron antibióticos, el 81,8% tomó Amoxicilina siendo los otros antibióticos de muy bajo consumo en esta población de estudio. Un 89,4% de los niños había consumido antibióticos hacía más de 15 días al momento de la toma de la muestra, dato que se puede observar en el cuadro 3.

Observamos en el cuadro 4 que el tiempo de consumo de estos antibióticos fue en su mayoría una semana o más con un porcentaje del 81,8%, en menor frecuencia lo hicieron por menos de una semana un 12,1% y 6,1% los que tomaron por menos de 3 días.

De acuerdo a las muestras analizadas podemos describir que las cepas de *S. mitis* aisladas fueron en su mayoría sensibles a la Amoxicilina en un 62,5% (cuadro 5 a), sensibles a la Eritromicina en un 50% (cuadro 5 b) y sensibles a la Clindamicina en un 92,5% (cuadro 5 c). Dichos valores se resumen en el cuadro 5 d cumpliendo así con el objetivo 2.

De los resultados obtenidos del estudio de la CIM se observó que un 27,5% fue resistente a la Penicilina siendo un 72,5% sensible (cuadro 6).

Según el objetivo 3 de las cepas que dieron resistentes a la Amoxicilina, 2 habían consumido antibióticos hacia menos de 15 días, 12 más de 15 días y uno de ellos no había consumido antibióticos (tabla 7 a). Teniendo en cuenta el tiempo de consumo 2 niños tomaron durante menos de una semana, 1 por menos de 3 días y 11 por una

semana o más (tabla 7 b).

En las cepas resistentes a la Eritromicina se observó que 3 de ellas consumieron antibióticos hacía menos de 15 días y 10 por más de 15 días (tabla 7 c). De ellas 2 niños lo consumieron por menos de una semana y 11 durante una semana o más (tabla 7 d). Para la Clindamicina sólo 2 cepas fueron resistentes, en ambas los pacientes habían consumido antibióticos por más de 15 días (tabla 7 e), uno de ellos lo hizo por menos de una semana y el otro durante una semana o más (tabla 7 f).

En la tabla 8 se puede observar la relación entre las cepas resistentes a la Amoxicilina, Eritromicina y Clindamicina con el último antibiótico consumido por el niño el cual fue mencionado en el cuestionario. De la misma podemos concluir que de las cepas resistentes a la Amoxicilina, 12 habían consumido Amoxicilina como último antibiótico y 1 niño consumió Clindamicina y 1 paciente otro tipo de antibiótico. De las cepas resistentes a Eritromicina, 12 niños consumieron Amoxicilina y 1 Azitromicina. En cuanto a las cepas resistentes a Clindamicina, 2 pacientes consumieron Amoxicilina.

Discusión

La flora humana normal es el conjunto de microorganismos que conviven con el hospedador en estado normal, sin causarle enfermedad.

La flora bucal es de tipo mixto, con asociación de bacterias aerobias y anaerobias. El *S. mitis* es un microorganismo integrante de la flora normal bucal, que se adhiere, tanto a los dientes como a las mucosas.

Este microorganismo fue de elección para este trabajo ya que presenta proximidad genética con el *S. pneumoniae*, siendo posible la transferencia de determinantes genéticos de resistencia. Esto es de gran interés, ya que éste último es causante de graves patologías. Las bacterias que han adquirido determinantes genéticos de resistencia presentan una disminución de la sensibilidad a los antibióticos. Por este motivo hallamos relevante el estudio de la resistencia bacteriana de *S. mitis* en un grupo de niños.

Los resultados de este trabajo nos abren camino a seguir profundizando sobre la importancia de la resistencia bacteriana y su relación con el consumo de antimicrobianos a nivel clínico y social.

Conclusiones

Teniendo en cuenta los objetivos planteados podemos concluir que los niños de 4 a 8 años que asisten a la clínica de Odontopediatría que participaron de nuestro trabajo presentaron un alto consumo de antibióticos. A pesar de ello no se observó un alto índice de resistencia bacteriana de *Streptococcus mitis* a ninguno de los antibióticos estudiados.

Por lo tanto, en esta población de estudio no podemos objetivar que exista una correlación entre la resistencia bacteriana de *S. mitis* y el consumo de antibióticos.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC).

El presente trabajo fue premiado en la 35ª Jornadas Internacionales de la Asociación Odontológica Argentina (AOA), Jornada Expo Cierre 2010 (CSIC) y V reunión anual de la Sociedad Uruguaya de Investigación Odontológica (SUIO).

Referencias Bibliográficas

- 1. Liébana Ureña J. Microbiología oral. 1ª edición. México D.F.: McGraw–Hill Interamericana, 1997.
- 2. Veeraraghavan B., Kane A. Antimicrobial Resistance in India: Current Scenario. APUA newsletter, 2008; 26(1): 1-5.
- 3. Lonks J, Dickinson BP, Runarsdottir V. En-

docarditis due to Streptococcus mitis with high–level resistance to Penicillin and Cefotaxime. (en linea). New Engl J Med. 1999; 341 (16): 1239. w w w . a m j m e d s c i . c o m / p t / r e / a j m s / fulltext.00000441-200207000-00008.htm (acceso 25/08/2008).

- arttext&pid=s1698-69462007000100010-&Ing=es&nrm=iso (acceso 25/08/2008).
- Pumarola A., Rodríguez-Torres A., Garcia-Rodríguez J.A., Piédrola-Angulo G. Microbiología y parasitología medica. 2ª edición. Barcelona: Salvat, 1984.
- 6. Negroni M. Microbiología estomatológica, fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1999.
- 7. Lamont R.J., Lantz M.S., Burne R.A., Leblanc D.J. Oral microbiology and inmunology. Washintong: ASM, 2006.
- 8. Fernández de Vega F. Aspectos microbiológicos de los estreptococos del grupo viridans. Control de calidad SEIMC. (en línea).

http://www.seimc.org/control/index.asp

- 9. Prieto Prieto J., Calvo A. Bases microbiológicas en las infecciones bucales y sensibilidad a los antibióticos. Med Oral Patol Cir Buca. (En linea). 2004; 9 Suppl: S11-8. Disponible en:
- www.medicinaoral.com/medoralfree01/v9Suppli/medoralv9supplip15.pdf (acceso 21/08/2008).
- 10. Winn W.C., Allen S.D., Janda W.M., Koneman E.W., Procop G.W., Schreckenberger P.C., Woods G.L. Koneman Diagnóstico microbiológico. 6ª edición. Buenos Aires. Médica Panamericana, 2008
- 11. Mac Faddin J. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Panamericana, 2003.
- 12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement. U.S.A. 2009. 29(3): 81-82.

carolina.verolo@adinet.com.uy jimeviera@hotmail.com