

**SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE BACILOS ENTÉRICOS AISLADOS EN CAVIDAD
ORAL A AMOXICILINA Y AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO**

Manuela Pantoja Arroyave

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE
PROGRAMA DE ODONTOLOGÍA - FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
BOGOTÁ D.C.- DICIEMBRE 2021**

HOJA DE IDENTIFICACION

Universidad	El Bosque
Facultad	Odontología
Programa	Odontología
Título:	Susceptibilidad antibiótica de bacilos entéricos aislados en cavidad oral a amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico
Grupo de investigación	Unidad de Investigación Básica Oral- UIBO
Línea de investigación:	Microbiología Oral
Tipo de investigación:	Pregrado
Estudiante:	Manuela Pantoja Arroyave
Director:	Nathaly Andrea Delgadillo Salgado
Codirector	Diana Marcela Castillo Perdomo
Asesor metodológico:	Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil

DIRECTIVOS UNIVERSIDAD EL BOSQUE

OTTO BAUTISTA GAMBOA	Presidente del Claustro
JUAN CARLOS LÓPEZ TRUJILLO	Presidente Consejo Directivo
MARIA CLARA RANGEL GALVIS	Rector(a)
RITA CECILIA PLATA DE SILVA	Vicerrector(a) Académico
FRANCISCO JOSÉ FALLA CARRASCO	Vicerrector Administrativo
MIGUEL OTERO CADENA	Vicerrectoría de Investigaciones.
CRISTINA MATIZ MEJIA	Secretaria General
JUAN CARLOS SANCHEZ PARIS	División Postgrados
MARIA ROSA BUENAHORA TOVAR	Decana Facultad de Odontología
MARTHA LILIANA GOMEZ RANGEL	Secretaria Académica
DIANA MARIA ESCOBAR JIMENEZ	Director Área Bioclínica
ALEJANDRO PERDOMO RUBIO	Director Área Comunitaria
JUAN GUILLERMO AVILA ALCALÁ	Coordinador Área Psicosocial
INGRID ISABEL MORA DIAZ	Coordinador de Investigaciones Facultad de Odontología
IVAN ARMANDO SANTACRUZ CHAVES	Coordinador Postgrados Facultad de Odontología

“La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mis padres por ser promotores de mi sueño, por creer en mi y en mis expectativas y darme la oportunidad de estudiar una carrera universitaria, a Dios por darme las fuerzas de culminarla a pesar de las adversidades presentadas, a mi abuela por su apoyo. Seguido agradezco a la Universidad El Bosque por permitirme hacer parte de la facultad de Odontología y brindarme todo lo necesario para formarme como profesional integral; al Instituto UIBO (Unidad de Investigación Básica Oral) y a la Dra. Gloria Lafaurie por permitirme realizar mi trabajo de grado en el grupo de Investigación, el cual ella lidera.

A la Dra. Diana Marcela Castillo coordinadora del Instituto UIBO y de la línea de Microbiología Oral y co-directora de mi trabajo de grado y a la Dra. Nathaly Andrea Delgadillo, quienes desde un primer momento me guiaron en mi proceso formativo brindándome sus conocimientos, tiempo y dedicación para que pudiese culminar el presente trabajo de grado. Así mismo, agradezco a la Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil por todas las recomendaciones brindadas durante estos años de formación. A la Dra. Yormaris Castillo y a la Dra. Yineth Neuta quiero agradecerles por apoyarme en el laboratorio en los diferentes procesos en donde me ayudaron para que pudiera finalizar mis experimentos en el tiempo acordado, así como en sus recomendaciones mientras estuve allí.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres, a mis hermanas y a mi abuela, pues ellos han sido un pilar para mi durante este proceso de mi carrera universitaria.

GUÍA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	12
2. MARCO TEÓRICO O CONCEPTUAL	2
2.1 CAVIDAD ORAL.....	2
2.2 BACILOS ENTÉRICOS EN LA CAVIDAD ORAL.....	3
2.3 ANTIBIÓTICOS EN ODONTOLOGÍA.....	4
2.3.1 ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS	5
2.3.2 MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS B-LACTÁMICOS	6
2.4 AMOXICILINA.....	7
2.5 ÁCIDO CLAVULÁNICO.....	7
2.6 RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS EN BACILOS ENTÉRICOS.....	8
2.7 MÉTODOS PARA DETERMINAR LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA.....	8
2.7.1 MÉTODOS DE SUSCEPTIBILIDAD CUALITATIVOS	9
2.7.1.2 DIFUSIÓN DE DISCO O MÉTODO DE KIRBY-BAUER.....	9
2.7.2 MÉTODOS DE SUSCEPTIBILIDAD CUANTITATIVOS	10
2.7.2.1 MACRODILUCIÓN EN CALDO.....	10
2.7.2.2 MICRODILUCIÓN EN CALDO	11
2.7.2.3 E-TEST.....	12
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
3.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	13
3.2 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	14
4. JUSTIFICACIÓN	15
5. SITUACIÓN ACTUAL EN EL ÁREA DE INVESTIGACIÓN	16
6. OBJETIVOS	18
OBJETIVO GENERAL:	18
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
7. METODOLOGÍA DEL PROYECTO	19
7.1 TIPO DE ESTUDIO: DESCRIPTIVO OBSERVACIONAL.....	19
7.2 POBLACIÓN Y MUESTRA:	19
7.2.1 MATERIALES Y MÉTODOS	19
7.2.1.2 PROCESAMIENTO MICROBIOLÓGICO	19
7.2.1.3 PREPARACIÓN DE INÓCULOS PARA MIC.....	20
7.2.1.3 MONTAJE DE MICRODILUCIÓN EN CALDO.....	20
7.2.1.4 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	20
7.2.1.5 DETERMINACIÓN DE MIC ₅₀ Y MIC ₉₀	21
PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS.	21
8. CONSIDERACIONES ÉTICAS	22
9. RESULTADOS	23
9.1 FRECUENCIA DE BACILOS ENTÉRICOS AISLADOS DE CAVIDAD ORAL	23
9.2 MIC 50 Y MIC 90 DE BACILOS ENTÉRICOS	23
10. DISCUSIÓN	27
11. CONCLUSIONES	30
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

LISTADO DE TABLAS

		Págs.
Tabla 1	Puntos de corte para interpretación de la MIC para bacterias Gram-negativas. Tomada de CLSI,2020	33
Tabla 2	Frecuencia de los géneros y especies de Enterobacter, Cronobacter, Klebsiella y Serratia encontradas en los 97 aislamientos evaluados. Elaborado por Nathaly Andrea Delgadillo	35
Tabla 3	Resultados obtenidos para la MIC 50 y MIC 90 en los aislamientos evaluados para amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico. Elaborado por Manuela Pantoja Arroyave	40

LISTADO DE FIGURAS

		Págs.
Figura 1	Esquema de mecanismo de acción de los antibióticos betaláctamicos	17
Figura 2	Esquema de método difusión por disco	21
Figura 3	Esquema de método macrodilucion en caldo	22
Figura 4	Esquema de método microdilución en caldo	22
Figura 5	Esquema de método E-test	24
Figura 6	Resultados obtenidos de la concetración mínima inhibitoria (MIC) por microdilución en caldo para Amoxicilina	39
Figura 7	Resultados obtenidos de la concetración mínima inhibitoria (MIC) por microdilución en caldo para Amoxicilina/ácido clavulanico	39

RESUMEN

Susceptibilidad antimicrobiana de los bacilos entéricos aislados de la cavidad oral a la amoxicilina y amoxicilina / ácido clavulánico

Introducción: Los bacilos entéricos son bacterias Gram negativas que normalmente habitan en el intestino y se comportan como un microbiota patógena en la cavidad bucal. Se ha descrito que la presencia de estos microorganismos complica la respuesta a tratamiento convencional en la práctica dental debido a sus altos índices de resistencia a los antibióticos de uso común como amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico. **Objetivo:** Determinar la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de bacilos entéricos aislados de la cavidad oral para amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico. **Métodos:** 97 aislamientos de bacilos entéricos se identificaron usando pruebas BBL Crystal enteric/ no fermenter. La susceptibilidad *in vitro* de los bacilos entéricos a los antibióticos amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico se estableció mediante el método de microdilución en caldo de acuerdo con las recomendaciones del CLSI 2020 y del MIC₅₀ y MIC₉₀ se definieron mediante la construcción de una base de datos registrada en un software de Microsoft Office 365 Excel. **Resultados:** Los aislamientos fueron identificados *Enterobacter cloacae* (n = 26); *Klebsiella oxytoca* (n = 17); *Serratia marcescens* (n = 15); *Klebsiella pneumoniae* (n = 13); *Cronobacter sakazakii* (n = 13); *Enterobacter gergoviae* (n = 6); *Serratia liquefaciens* (n = 5); *Enterobacter aerogenes* (n = 2). La concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aislamientos mostró una mayor resistencia a la amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico. Se estableció una CIM₅₀ = 32 µg / mL y una CIM₉₀ = 32 µg/mL, evidenciando que existe una resistencia de más del 90% de los aislamientos evaluados. **Conclusiones:** Los aislamientos evaluados presentan un perfil de resistencia a amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico, lo que sugiere que los antibióticos que se utilizan con mayor frecuencia en la práctica odontológica no son un tratamiento alternativo para la infección por contaminación de bacilos entéricos.

Palabras clave: Susceptibilidad antimicrobiana; bacilos entéricos; cavidad oral; amoxicilina; amoxicilina/ácido clavulánico.

ABSTRACT

Antimicrobial susceptibility of enteric rods isolated from the oral cavity to amoxicillin and amoxicillin/clavulanic acid

BACKGROUND: Enteric rods are Gram-negative bacteria that normally inhabit the gut and behave as a transient or pathogenic microbiota in the oral cavity. The presence of these microorganisms has been described to complicate the course of periodontal disease and its clinical profile, as well as the response to conventional treatment in the dental practice due to its high rates of resistance to commonly used antibiotics such as amoxicillin and amoxicillin/clavulanic acid. **OBJECTIVE:** To determine *in-vitro* the antimicrobial susceptibility of enteric rods isolated from the oral cavity to amoxicillin and amoxicillin/clavulanic acid. **METHODS** Ninety-seven isolated bacterial colonies were identified and evaluated using the BBL Crystal enteric/non-fermenter system. The susceptibility *in vitro* of enteric rods to the amoxicillin and amoxicillin/clavulanic acid was established by the broth microdilution method in accordance with the recommendations of the CLSI 2020, and MIC₅₀ and MIC₉₀ were defined through the construction of a database registered in Microsoft Excel. **RESULTS:** Bacteria identified from the isolates were *Enterobacter cloacae* (n = 26); *Klebsiella oxytoca* (n = 17); *Serratia marcescens* (n = 15); *Klebsiella pneumoniae* (n = 13); *Cronobacter sakazakii* (n = 13); *Enterobacter gergoviae* (n = 6); *Serratia liquefaciens* (n = 5); *Enterobacter aerogenes* (n = 2). The minimum inhibitory concentration (MIC) of the isolates shows a higher resistance to amoxicillin and amoxicillin/clavulanic acid. It was established a MIC₅₀ = 32 µg/mL and a MIC₉₀=32 µg/mL, showing that there is a resistance of more than 90% of isolates evaluated. **CONCLUSIONS:** The isolates evaluated present a resistance profile to amoxicillin and amoxicillin/clavulanic acid, which suggests that the antibiotics that are used more frequently in dental practice are not an alternative treatment for infection with contamination of enteric rods.

KEY WORDS: Antimicrobial susceptibility; Enteric rods; oral cavity; amoxicillin; amoxicillin/clavulanic acid.

1. INTRODUCCIÓN

Los bacilos entéricos son un grupo de bacterias Gram negativas que habitan normalmente el tracto gastrointestinal compuestas mayoritariamente por especies de los géneros *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Hafnia* y *Proteus*. En la cavidad oral estos microorganismos actúan como microbiota transeúnte o patógenos oportunistas que puede llegar a alterar el tratamiento antibiótico en las infecciones orales (Gonçalves *et al.*, 2007; Mouratidou *et al.*, 2011; Kilian *et al.*, 2016).

En pacientes con infecciones como abscesos y enfermedad periodontal avanzada la presencia de estas bacterias podría complicar el curso de la enfermedad y el tratamiento ya que, el amplio contenido de material genético que codifica para genes que favorecen la resistencia a antibióticos que afectan el tratamiento clínico convencional (Rodríguez *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2014).

En odontología se ha reportado gran uso en la prescripción de los antibióticos betalactámicos como la amoxicilina, debido al amplio espectro de bacterias que puede llegar a eliminar en diferentes procesos infecciosos. No obstante, el aumento en la resistencia hacia este grupo de antibióticos y la necesidad de eliminar patógenos anaerobios que pueden estar implicados en diversas infecciones. Por lo tanto, hacen que el profesional prescriba antibióticos para microorganismos productores de β -lactamasas como lo es amoxicilina/ácido clavulánico con el objetivo de aumentar su espectro. Siendo la amoxicilina/ácido clavulánico uno de los antibióticos a elección por su espectro y su eficacia antibacteriana contra este tipo de patógenos; así como su baja incidencia de resistencia (Segura *et al.*, 2016). Por tal motivo en este trabajo se estudió la susceptibilidad antibiótica *in vitro* de 97 aislamientos de bacterias entéricas aisladas de cavidad oral a amoxicilina y amoxicilina /ácido clavulánico, esto con el fin de contribuir con datos epidemiológicos y a la toma de decisiones a futuro en la práctica clínica odontológica en el tratamiento de infecciones de origen oral.

2.MARCO TEÓRICO O CONCEPTUAL

2.1 Cavidad Oral

La cavidad oral está constituida por diferentes hábitats microbianos como dientes, lengua, mucosa oral, paladar blando y duro. El hábitat conforma un microbioma oral polimicrobiano que cuenta con más de 700 especies de procariotas. Estas especies pertenecen a 185 géneros y 12 filos, de los cuales aproximadamente el 54% tienen nombre oficial, el 14% no tienen nombre (pero se cultivan) y el 32% se conocen solo como filotipos no cultivables. Dentro del filo de Proteobacteria se encuentra la familia Enterobacteriaceae, un grupo de bacterias Gram negativas, que pueden llegar al ecosistema oral por la ingestión de agua potable contaminada, alimentos, contacto con aerosoles del baño o por el contacto con el cepillo de dientes previamente almacenado en ambientes sanitarios (Duran, 2012; Zhao *et al.*, 2017; Zaatout, 2021). Se ha descrito que los microorganismos que hacen parte de la microbiota oral son similares en personas sanas de diferentes países. Sin embargo, esta puede variar debido a factores ambientales y la alimentación de cada individuo. Dentro de las bacterias que pueden llegar a encontrarse y variar entre individuos ha reportado la presencia de bacilos entéricos los cuales pueden cursar como microbiota transeúnte, su papel en la cavidad oral se ha asociado con complicaciones en el tratamiento antibiótico debido al gran contenido de enzimas y genes reportados como mecanismos de resistencia (Lu *et al.*, 2018).

Por otro lado, también se encuentran como parte de la microbiota residente y como colonizadores principales de las superficies orales bacterias anaerobias facultativas como especies de los géneros *Streptococcus* spp y *Actinomyces* spp. Así mismo, se pueden encontrar bacterias como *Streptococcus mutans* y especies de los géneros *Gemella*, *Veillonella*, *Neisseria*, *Eikenella*, *Campylobacter*, *Fusobacterium* y *Leptotrichia*, *Lactobacillus*, *Prevotella* y *Actinomyces* siendo *Streptococcus*, *Veillonella* y *Prevotella* unos de los géneros más predominantes en paladar, dorso de la lengua, amígdalas y mucosa yugal (Aas *et al.*, 2005; Dzidic *et al.*, 2018; Arponen *et al.*, 2019).

2.2 Bacilos entéricos en la cavidad oral

La familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias Gram negativas. Reciben su nombre por su ubicación habitual al tubo digestivo de animales o humanos, aparato genitourinario, piel, agua, suelo y plantas. Son anaerobias facultativas y bioquímicamente se caracterizan por fermentar la glucosa y no presentar enzimas como oxidasa. Las bacterias entéricas se caracterizan por sus factores de virulencia dentro de los cuales se destacan las fimbrias que les permite adherirse a la mucosa; la presencia de toxinas, como la hemolisina capaz de potenciar el efecto de las fimbrias. Su expresión se correlaciona con una mayor severidad de las infecciones producidas por estas cepas con mayor prevalencia de daño renal y bacteriemia. Es de destacar que estas bacterias tienen la capacidad de adquirir rápidamente resistencia a los antibióticos, esto se puede dar porque la mayoría de estos microorganismos cuentan con plásmidos, que son unidades de ADN extracromosómico que se transfieren a través de un proceso llamado conjugación, proceso donde los plásmidos que son elementos con información genética móviles, tienen la capacidad de transferir de una célula a otra este material genético codificante para mecanismos de resistencia a los antibióticos, mediante una estructura llamada pili (Sánchez *et al.*, 2012).

En cavidad oral, la familia *Enterobacteriaceae* se han aislado en saliva de pacientes sanos, con prótesis dentales y en bolsas de pacientes con enfermedad periodontal, siendo estas transitorias tanto en individuos sanos oralmente como con diferentes patologías. Los géneros más comunes que se han encontrado son: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Hafnia* y *Proteus*. Se ha visto el papel importante que juegan estas bacterias en el entorno oral, ya que causan complicaciones clínicas en el manejo terapéutico debido a la gran cantidad de genes y elementos móviles que contienen para la resistencia a diferentes clases de antibióticos y a la gran capacidad de transferencia de estos genes a otros microorganismos que a su vez se ve favorecido por el uso de antibióticos indiscriminado y de venta libre el cual, permite el crecimiento excesivo de cepas resistentes como lo son *Klebsiella Oxytoca* (Barbosa *et al.*, 2001; Rodríguez *et al.*, 2010; Mouratidou *et al.*, 2011; López *et al.*, 2016). Se

ha descrito la presencia de bacilos entéricos en individuos que usan prótesis dentales y en personas que presentan halitosis, así mismo se han aislado de personas sanas con higiene oral deficiente, con patologías de compromiso sistémico y terapias invasivas como radioterapias o individuos que se encuentran recibiendo una terapia antibiótica de alto espectro (Slots *et al.*, 1988; Brito *et al.*, 2016). La presencia de los bacilos entéricos en cavidad oral se puede asociar con condiciones demográficas (edad, sexo, nivel socioeconómico, fumador, raza) y culturales del país. Además, se puede asociar la presencia de estos microorganismos en alimentos, agua contaminada, mala higiene oral, y uso indiscriminado de antibióticos. Se ha descrito que los bacilos entéricos se pueden encontrar en placas subgingival de paciente con periodontitis y en pacientes sanos sugiriendo que la presencia de estos puede estar asociada a prácticas pobres de higiene oral, consumo de alimentos contaminados, autoinoculación con cepillos dentales y raza (Mayorga-Fayad *et al.*, 2007) estos son altamente susceptibles a antibióticos como ciprofloxacina y a las tetraciclinas, así como la terapia mecánica con irrigación de la bolsa con clorhexidina (Slots *et al.*, 1990).

Por otro lado, la prevalencia de los bacilos entéricos es diversa entre diferentes partes del mundo: Sudan (90%), República Dominicana (67%), China (57%), Rumania (61.1%), Colombia (36%), Suecia (34.9%), Estados Unidos (28%) y Chile (17.6%). En Colombia, en un estudio realizado por el Instituto de Investigación Básica Oral (UIBO), se encontró una mayor prevalencia, en muestras de saliva de pacientes con periodontitis anteriormente denominada periodontitis agresiva se encontró un 66% de bacterias entéricas y 53% en pacientes con periodontitis crónica (Ardila *et al.*, 2010; Duran, 2012; Botero *et al.*, 2017).

2.3 Antibióticos en odontología

Actualmente el uso de los antibióticos en odontología es frecuente en enfermedades de origen infeccioso, así como en el tratamiento profiláctico es decir antes de procedimientos quirúrgico en pacientes con alteraciones sistémicas como hipertensión, diabetes, enfermedades autoinmunes, específicamente en pacientes con: enfermedad periodontal que no ceda al raspaje y alisado radicular, absceso periapical, gingivitis ulcerosa necrotizante,

alveolitis, pericoronaritis, periimplantitis y periodontitis. Los antibióticos de primera elección para el tratamiento de infecciones odontogénicas son las penicilinas, como la amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico, fenoximetilpenicilina y bencilpenicilina y como alternativa para los pacientes alérgicos a los betalactámicos, los fármacos de elección son lincosamidas (clindamicina) macrólidos, (azitromicina y claritromicina) tetraciclinas (doxiciclina) fluoroquinolonas, moxifloxacino, y quinolonas, ciprofloxacina. En el área de la odontología, se suelen prescribir antibióticos de manera innecesaria con las indicaciones incorrectas así mismo debe considerarse que consumo de antibióticos no deberían ser una alternativa de tratamiento si no un coadyuvante (Moreno *et al.*, 2012; Oberoi *et al.*, 2015; Theo *et al.*, 2018).

2.3.1 Antibióticos betalactámicos

Los betalactámicos son un amplio grupo de antibióticos que constituyen la familia más numerosa de antimicrobianos y la más utilizada en la práctica clínica donde se encuentran las penicilinas naturales o semisintéticas, cefalosporinas, monobáctamicos, carbapenémicos e inhibidores de las betalactamasas. Su estructura se caracteriza por la presencia del anillo betalactámico, el cual consiste en un anillo heterocíclico de cuatro átomos, tres de carbono y uno de nitrógeno. De la unión de los radicales se diferencian las distintas moléculas, siendo las cadenas laterales complementarias las más relacionadas con su actividad antimicrobiana y toxicidad (Gómez *et al.*, 2015). Dentro de las características de este grupo de antibióticos se destaca su acción sobre un amplio espectro de bacterias y su baja toxicidad por lo cual han sido el grupo de antibióticos más utilizados en la práctica clínica ya que su espectro incluye bacterias Gram positivas y Gram negativas (Suarez *et al.*, 2009; Gómez *et al.*, 2015; Akhavan *et al.*, 2020). Uno de los betalactámicos más usados han sido las penicilinas, un grupo de antibióticos que en su estructura química contienen un anillo betalactámico y un anillo de tiazolidina, formando el ácido 6-aminopenicilánico. En odontología las penicilinas semisintéticas como la amoxicilina han sido ampliamente usadas ya que presenta una mejor tolerancia, menor de toxicidad. Su espectro está dirigido a bacterias Gram-negativas, Gram-positivas y espiroquetas. Se ha descrito los diferentes espectros según la clase de β -lactámico

Sulbactam (bacilos Gramnegativos no fermentadores, *K. pneumoniae*) Cefalosproinas de primera generación (cocos Grampositivos) Aztreonam (Gramnegativas aerobias y anaerobias facultativas) (Marín *et al.*, 2003; Ramasamy *et al.*, 2014).

2.3.2 Mecanismo de acción de los antibióticos β -lactámicos

Los β -lactámicos son antibióticos bactericidas que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana e inducen un efecto autolítico. La Inhibición de la síntesis de la pared bacteriana se logra al inhibir las enzimas transpeptidasas y carboxipeptidasas y esto impide que las cadenas de los peptidoglucanos se intercrucen y el segundo mecanismo de acción consiste en la activación de unas autolisinas bacterianas endógena que deshacen a los peptidoglucanos tal como se muestra en la figura 1 (Bayles, 2000; Marin *et al.*, 2003; Suarez *et al.*, 2009).

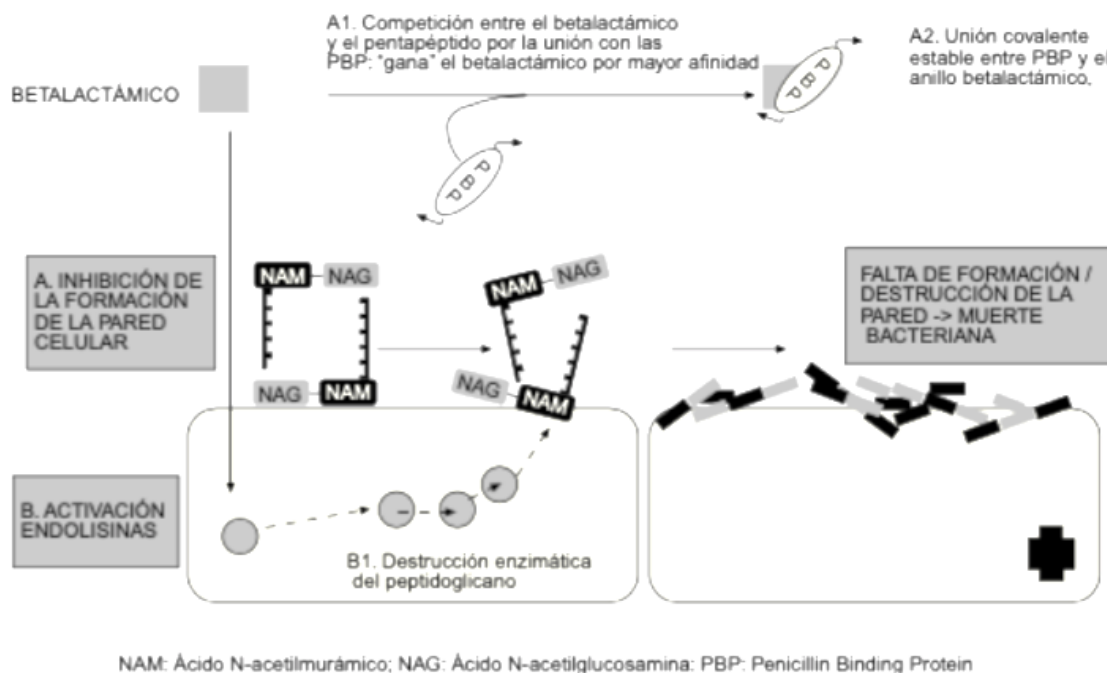


Figura 1. Esquema de mecanismo de acción de los antibióticos betalactámicos

Tomado de: Suárez, C., & Gudiol, F. (2009). Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 27(2), 116–129.

2.4 Amoxicilina

Es uno del antibiótico más frecuentemente prescrito a nivel mundial sola o con ácido clavulánico (Hunter *et al.*, 2019). La OMS (Organización Mundial de la Salud) en el 2018 lo puso en la lista de medicamentos esenciales. Es una penicilina semisintética de amplio espectro, bactericida. Se une a la proteína fijadora de penicilina (PBP) que es una enzima importante para síntesis de la pared bacteriana. Es absorbida rápidamente después de la administración oral y se expande inmediatamente en la mayoría de los tejidos. En el 2012 en Australia la amoxicilina fue el antibiótico más prescrito con mayor frecuencia representado por 66.3 % de todas las prescripciones odontológicas (Ford *et al.*, 2016).

2.5 Ácido clavulánico

El ácido clavulánico es un inhibidor de las betalactamasas que se usa a menudo junto con la amoxicilina para ampliar su espectro y combatir la resistencia contra este grupo de antibióticos. Es un inhibidor “suicida” de β -lactamasas el cual, se usa en combinación con alguna penicilina. Por si solo tiene poca o ninguna actividad antimicrobiana propia y, en cambio, actúa previniendo la destrucción bacteriana de los betalactámicos. Su efecto se debe cuando se hace la unión covalente a un residuo el sitio activo de la β -lactamasas, lo que da lugar a una reestructuración entonces el ácido clavulánico se vuelve más activo atacando a los aminoácidos en el sitio de la β -lactamasa inactivándolo. Representa el 10,4% de las prescripciones odontológicas en Australia del 2016 aumentando su uso en 15,3% desde el 2013 al 2016. El ácido clavulánico aumenta el espectro bacteriano de la amoxicilina, es superior a la amoxicilina sola e igual de eficaz a algunas cefalosporinas. Su función es proteger a la amoxicilina de la inactivación de las B-lactamasas como consecuencia de la resistencia bacteriana que amenaza su uso (Todd *et al.*, 1990; Theo *et al.*, 2018; Huttner *et al.*, 2019).

2.6 Resistencia a los antibióticos betalactámicos en bacilos entéricos

Se han descrito dos mecanismos de resistencia: la principal producción de betalactamasas los bacilos entéricos presentan resistencia intrínseca a las penicilinas porque producen betalactamasas de manera natural esta producción está dirigida por un gen cromosómico o transferido por plásmidos dentro de los bacilos entéricos productores de betalactamasas podemos encontrar *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Shigella* spp (Abraham *et al.*,1994; Suarez *et al.*, 2008). Algún microorganismo cuenta con una función denominada protección osmótica que al destruir su pared bacteriana es capaz de sobrevivir. Las bases genéticas responsables de la producción de bacilos entéricos es el gen Bl_{TEM} y lo que evidenció una transferencia de este gen en dichos microorganismos. Se ha reportado modificaciones en el sitio diana de los peptidoglucanos, lo que significa que el antibiótico pierde la afinidad para la destrucción de la bacteria. Así mismo, se ha reportado el uso de bombas de eflujo las cuales actúan expulsando el antibiótico al exterior, se ha descrito la resistencia antibiótica de *Enterococcus faecalis* (ampicilinas), *Salmonella entérica* (amoxicilinas del 20-40%), *Escherichia coli* (amoxicilina y piperacilina), *Klebsiella pneumoniae* (cefalosporinas de tercera y cuarta generación), *Enterobacter* spp (piperaciclina-tazobactam, cefalosporinas de tercera generación y aztreonam) (Abarca *et al.*, 2001; Marin *et al.*, 2003; Vignoli *et al.*, 2008; Ramos *et al.*, 2009).

2.7 Métodos para determinar la susceptibilidad antibiótica

Los métodos para determina la susceptibilidad antibiótica se clasifican en cuantitativos y cualitativos.

2.7.1 Métodos de susceptibilidad cualitativos

Estos clasifican a los microorganismos como resistentes o sensibles.

2.7.1.2 Difusión de disco o método de Kirby-bauer

Indicado para microorganismos que no requieren tantos factores de crecimiento. Su fundamento es aislar un microorganismo, sembrarlo y poner discos de papel de filtro sobre el agar impregnados del antibiótico a estudiar en una concentración de 1.5×10^8 UFC/mL que corresponde a 0.5 en la escala de McFarland. Una vez el disco puesto el filtro absorbe el agua y se expande sobre el agar. Los resultados se pueden observar 18-24 horas después. Su resultado se puede interpretar a través de una zona de inhibición del crecimiento alrededor del disco tal como se observa en la figura 2.

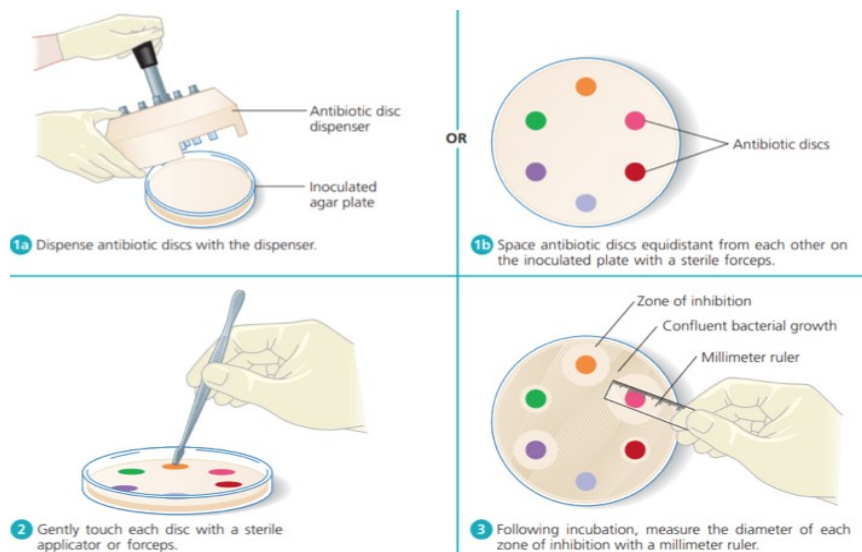


Figura 2. Se observa el paso-paso del método de difusión de disco, 1a) inoculación de la placa con la concentración estándar de bacterias, 1b) colocación de discos impregnados con diferentes antibióticos, 2) fijación de discos con una pinza estéril, 3) medición del halo de inhibición con una regla milimetrada.

Tomado de: James G, Sherman N. Microbiology: A laboratory Manual Pearson. Edición 10

2.7.2 Métodos de susceptibilidad cuantitativos

Estos permiten establecer la concentración mínima inhibitoria (MIC) Esta es la concentración mínima de un antibiótico que en determinado tiempo inhibe el crecimiento *in vitro* de un microorganismo, los métodos que determinan esto es macro y microdilución en caldo, o E-test.

2.7.2.1 Macrodilución en caldo

Esta técnica como se observa en la figura 3 requiere de una gran cantidad de caldo. Consiste en preparar tubos con diferentes diluciones de antibiótico para examinar su crecimiento, para la preparación se pone 1 mL de caldo Müller Hinton con calcio y magnesio estéril, al primero de los tubos se adiciona 2 mL de solución antibiótica, hasta llegar a la concentración antibiótica que se propone evaluar. Con una pipeta estéril se toman 1 mL del primer tubo al segundo, este proceso se repite tantas veces como diluciones se preparen, al llegar al penúltimo de los tubos se tomarán 1 mL y se desecha porque el último tubo es utilizado para control de crecimiento.

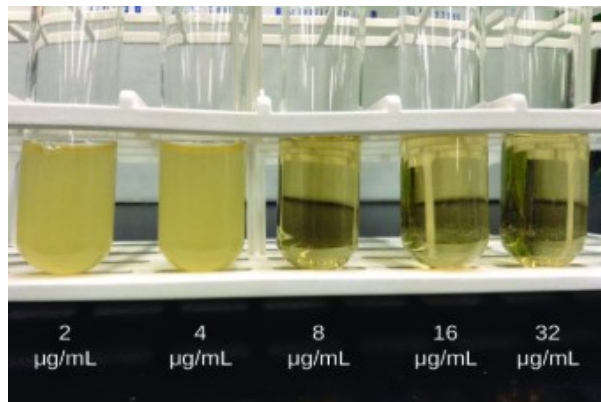


Figura 3. Se observa una macrodilución en caldo con diluciones 2 µg/mL, 4 µg/mL, 8 µg/mL, 16 µg/mL y 32 µg/mL. La MIC es 8 µg/mL.

Tomado de: Furuno P "Using Antibiograms to Improve Antibiotic Prescribing in Skilled Nursing Facilities." *Infection Control and Hospital Epidemiology* Volume 35 (Número 3) Pag 56-61

2.7.2.2 Microdilución en caldo

Este método requiere de bajos volúmenes de caldo. Se hace uso de una placa que tenga 96 pozos que tienen entre 7 y 8 diluciones de agentes antibióticos. De la columna 1 a la 9 se pondrán los diferentes aislamientos a evaluar, la columna número 10 servirá como control de validación de la MIC, la columna 11 control de esterilidad del aislamiento control, y la columna 12 será el control de esterilidad como se puede observar en la figura 4. Se maneja 0.1 ml de caldo Mueller Hinton ajustado en cationes (CAMHB) en cada pozo y se incuba a 37°C durante 24 horas (Malbran, 2012).

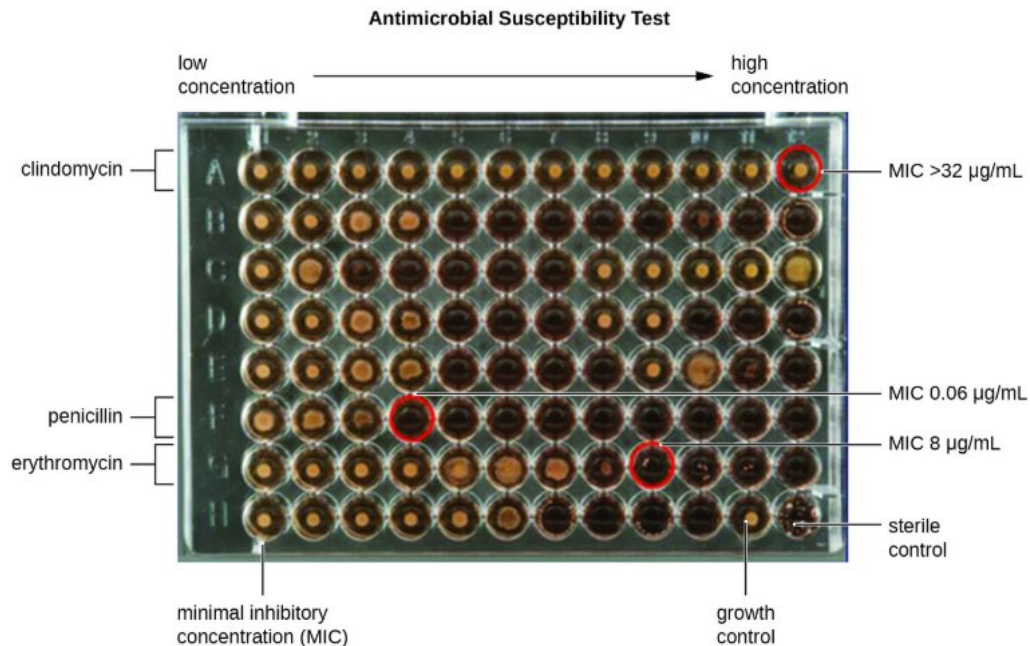


Figura 4. Se observa una placa con 96 pozos con diferentes diluciones de un antibiótico de manera ascendente de izquierda a derecha. La fila A corresponde a clindamicina, fila F penicilina y fila G a eritromicina. El círculo rojo demarca la concentración mínima que inhibió el crecimiento .

Tomado de: J.P. Furuno et al. "Using Antibiograms to Improve Antibiotic Prescribing in Skilled Nursing Facilities." *Infection Control and Hospital Epidemiology* Volumen 35 (Número 3) Pag 56–61.

2.7.2.3 E-test.

Este método requiere de una tira de plástico que contiene una solución predeterminada de antibiótico la cual equivale 15 diluciones. Se coloca la tira del E-test sobre el agar, al tocar la superficie húmeda se extenderá el antibiótico. Tras la incubación de las placas, se puede observar una zona de inhibición elipsoidal y así mismo la CIM tal como se observa en la figura 5 (Taroco *et al.*, 2006).

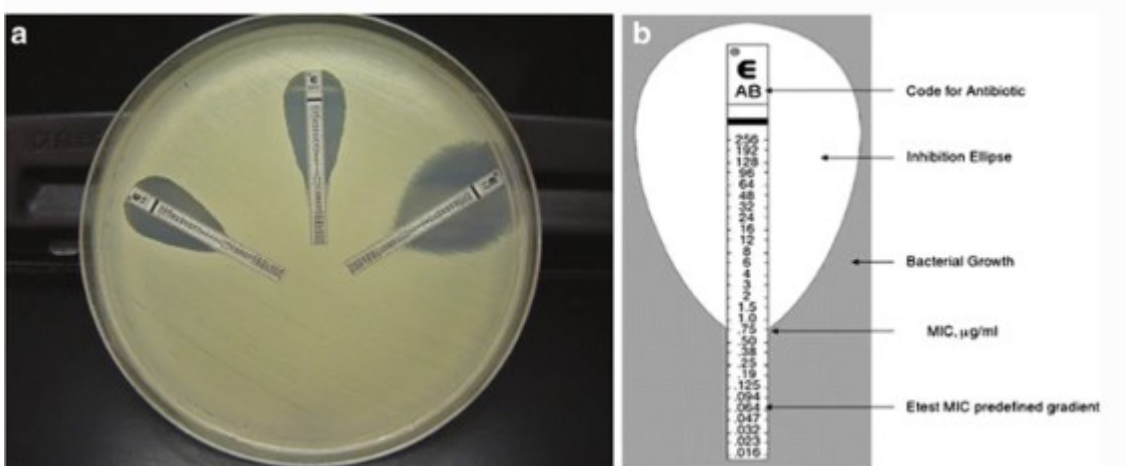


Figura 5. a) se observa una placa de agar Müller-Hinton con tres tiras correspondientes a antibióticos diferentes y su inhibición en forma de elipse. b) se observa al detalle la tira impregnada con concentraciones ascendentes, se observa la MIC 0.75 µg/mL para el antibiótico evaluado.

Tomado de: Schumacher, A., Vranken, T., Malhotra, A. *et al.* In vitro antimicrobial susceptibility testing methods: agar dilution to 3D tissue-engineered models. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* Volumen **37** Pag187–208 (2018).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

3.1 Descripción del problema

Las bacterias entéricas son miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y han sido descritas como bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos y parte de la microbiota del tracto gastrointestinal. Sin embargo, en boca son consideradas microbiota transeúnte. De acuerdo con lo reportado por Mayorga-Fayad *et al.*, (2007) la prevalencia de estas bacterias en cavidad oral puede variar, encontrándose tanto en pacientes sanos, como con enfermedad periodontal. En países como Estados Unidos, Slots *et al.*, (1988) la prevalencia de estos bacilos en un 14% de la población, a diferencia de países como China donde la prevalencia fue 27,9%. En Colombia, Ardila- Medina *et al.*, (2011) reportan una prevalencia de 26.31%, observando una mayor frecuencia en pacientes considerados clínicamente refractarios a terapias mecánicas y antibióticas convencionales, lo cual se relaciona con las complicaciones en el tratamiento convencional que pueden generar este grupo de bacterias cuando están presentes de forma concomitante con otras patologías en cavidad oral, ya que se ha descrito múltiples mecanismos de resistencia a antibióticos de uso común en el ámbito odontológico.

Segura-Egea *et al.*, (2017) describen que el 10% de las prescripciones antibióticas están relacionadas con infecciones de origen odontogénico como: pulpitis, gingivitis, periodontitis, abscesos apicales y pericoronaritis; donde antibióticos como amoxicilina del grupo de los antibióticos betalactámicos son considerados el primer antibiótico de elección dado su amplio margen terapéutico y su escasa toxicidad. En 1990 Legg *et al.*, sugieren que la terapia antibiótica para enfermedad periodontal sea la amoxicilina siempre y cuando esté en combinación con ácido clavulánico. Este es uno de los antibióticos recomendados para las infecciones odontogénicas (Huttner *et al.*, 2019). Aún cuando existen diversas alternativas en el tratamiento de las infecciones de origen odontogénico, también existen reportes como Gomes *et al.*, (2017) donde se evidencia los diferentes mecanismos de resistencia que existe por parte de los bacilos entéricos hacia estas moléculas, los cuales se han incrementado en los últimos años debido al uso indiscriminado y la venta libre o sin prescripción de este tipo

de moléculas en países como España, Brasil y Colombia. De acuerdo con González *et al.*, (2020) en su estudio actualmente en Colombia se han identificado bacilos entéricos de muestras de saliva y placa dental de pacientes sanos, siendo estas resistentes a antibióticos betalactámicos de uso hospitalario como cefalosporinas de tercera generación como cefoperazona (98,3%), cefoxitin (91,5%) y cefotaxima (89,9%) y a aztreonam (88%) y a macrólidos como eritromicina. Sin embargo, no hay datos reportados con antibióticos como amoxicilina y amoxicilina/ ácido clavulánico lo cual evidencia un vacío en el conocimiento y en la vigilancia de resistencia a antibióticos para este tipo de aislamientos en la región.

3.2 Pregunta de Investigación

¿Cuál es la de susceptibilidad antibiótica de los bacilos entéricos aislados de cavidad oral a antibióticos como amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico?

4. JUSTIFICACIÓN

Los bacilos entéricos se pueden encontrar en pacientes sanos, hacen parte de la microbiota transeúnte. Estudios han demostrado que los bacilos entéricos persisten después de la terapia mecánica y además presentan alta resistencia a los antibióticos usados para tratar estas enfermedades. En pacientes con enfermedad periodontal, periimplantarias y abscesos pueden complicar el tratamiento odontológico, pues estos microorganismos codifican genes de resistencia a los antibióticos de uso común (Ardila *et al.*, 2009; Ardila *et al.*, 2013). Algunos autores como González *et al.*, 2020 describen los riesgos de presentar bacterias con resistencia a antibióticos en cavidad oral en su mayoría bacilos entéricos puesto que pueden considerarse como reserva genética a partir de la cual se puede transferir factores de resistencia a otras bacterias más patógenas, así como la potencialidad de producir enfermedades sistémicas difícil de tratar por el carácter de multirresistencia que presentan (González *et al.*, 2020). En Colombia el ministerio salud y protección social mediante el sistema nacional de la resistencia antimicrobiana y programa de prevención, vigilancia y control de infecciones asociadas a la atención en salud-IAAS (Infecciones Asociadas a la Atención en Salud) y la resistencia antimicrobiana realizan constante vigilancia epidemiológica junto con grupos de investigación como el Grupo para el Control de la Resistencia Bacteriana en Bogotá (GREBO), el Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM), la Red de Vigilancia de Eventos Nosocomiales del Valle (RENOVA). Sin embargo, existen pocos estudios que arrojen información respecto al comportamiento en términos de susceptibilidad de las de bacterias entéricas aisladas de cavidad oral por lo tanto este trabajo proporciona información para la vigilancia de la resistencia a antibióticos en bacilos entéricos aislados de cavidad oral.

5.SITUACIÓN ACTUAL EN EL ÁREA DE INVESTIGACIÓN

Los estudios de susceptibilidad de *Enterobacteriaceae* en la cavidad oral no son suficientes, no obstante, estos se han vuelto cada vez de mayor interés debido a la complicación que pueden generar dichos microorganismos. Anteriormente se creía que los bacilos entéricos solo albergaban en la cavidad oral de pacientes sistémicamente comprometidos, en estudios recientes se ha evidenciado que están también en individuos sanos, tal como lo menciona autores como Brito *et al.*, (2016) y Mayorga-Fayad *et al.*, 2007 donde se observa la presencia de bacilos entéricos, principalmente los pertenecientes a la tribu Klebsielleae (géneros *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) de pacientes sanos (Brito *et al.*, 2016; Mayorga-Fayad *et al.*, 2007).

Se realizó un estudio para conocer la microbiota que alberga en la enfermedad periodontal y se encontró con que las bacterias entéricas se encuentran en 29.8% en pacientes con esta enfermedad y pacientes controles. En el año 2017 se evaluó la microbiota/biofilm de las pacientes sano con implantes vs la periimplantitis y de pacientes con periodontitis. Se evidencio que hay bacilos entéricos en dientes con las patologías ya mencionadas. No obstante el autor relata que esta no es la causa de esas enfermedades más bien los bacilos entéricos los describen como patógenos oportunistas. Actualmente se ha descrito los bacilos entéricos una prevalencia del 71% y 83% de los bacilos entéricos en sujetos con enfermedad y salud periodontal (Lafaurie *et al.*, 2002; Lafaurie *et al.*, 2017; Ranganathan *et al.*, 2017).

En Cali, Colombia se realizó un estudio en pacientes sistémicamente sanos para evaluar la resistencia a antibióticos β -lactámicos y eritromicina en la cavidad oral, se pudo evidenciar que los bacilos entéricos estaban en un 33,1% de las muestras de placa y saliva, los autores llegaron a la conclusión que la presencia de los bacilos entéricos resistentes a los antibióticos y portadores de genes asociados a esta resistencia en la cavidad oral de un individuo sano puede representar un riesgo para su salud ya que estos cuentan con una reserva genética mediante la cual se pueden transferir factores de resistencia a otras bacterias más patógenas (González *et al.*, 2020).

Un estudio en Asia de sur en el 2018 se evaluó la susceptibilidad de Bacilos entéricos (*Shigella* spp). Aunque los estudios de prevalencia de los bacilos entéricos en la cavidad no sean usuales las investigaciones de este tipo son demasiado importantes por el carácter multirresistente que estos microorganismos especialmente las bacterias entéricas presentan a una alta gama de antibióticos (Brito *et al.*, 2016).

6. OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar susceptibilidad antibiótica de aislamientos de bacterias entéricas aisladas de cavidad oral a amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico.

Objetivos específicos

1. Identificar y establecer la frecuencia de bacilos entéricos aislados de cavidad oral.
2. Determinar de susceptibilidad a amoxicilina y amoxicilina con ácido clavulánico en bacterias entéricas aisladas de cavidad oral.
3. Definir la CMI₅₀ y CMI₉₀ a amoxicilina y amoxicilina con ácido clavulánico en las bacterias entéricas aisladas de cavidad oral.

7. METODOLOGÍA DEL PROYECTO

7.1 Tipo de estudio: Descriptivo observacional

7.2 Población y muestra:

Se evaluaron 97 aislamientos de bacilos entéricos provenientes de placa subgingival y saliva, aislados de diferentes muestras clínicas orales de pacientes que asistieron a consulta a las clínicas odontológicas de la Universidad El Bosque; almacenadas en el cepario del Laboratorio de Microbiología Oral del Instituto- UIBO (Unidad de investigación Básica Oral) y conservados a - 80°C en caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón) con 10% de glicerol.

7.2.1 Materiales y métodos

Para determinar la susceptibilidad antibiótica microbiana por microdilución en caldo se cultivaron las bacterias y se siguió el procedimiento que indica a continuación:

7.2.1.2 Procesamiento microbiológico

Se descongelaron 97 aislamientos clínicos de bacilos entéricos provenientes de diferentes muestras clínicas orales de pacientes que asistieron a consulta a las clínicas odontológicas de la Universidad El Bosque. Se tomó 10µL de cada aislamiento y se realizó una siembra por agotamiento en agar MacConkey y se incubaron a 37° C en atmósfera de aerobiosis durante 24 horas. Posteriormente se verificó el crecimiento, morfología de colonias y pureza de los aislamientos, una vez confirmada su pureza se sembraron los aislamientos en agar BHI para luego hacer el inóculo correspondiente. Se realizó la identificación de los géneros y especies bacterianas utilizando la galería bioquímica BBL Crystal E/NF, la cual se incubó a 37°C, durante 24 horas, además se realizaron pruebas complementarias de índol y oxidasa.

7.2.1.3 preparación de inóculos para MIC

Con los aislamientos anteriormente cultivados y verificados su pureza, se ajustó el inóculo colocando 1 a 2 UFC (Unidades formadoras de colonia) con ayuda de un hisopo en 7 mL de solución salina estéril. Posteriormente se homogenizó en un vortex durante 30 segundos, hasta alcanzar una turbidez de 0.5 de la escala de Mc Farland, para esto se empleó la medición en un espectrofotómetro a λ 625 nm hasta obtener la densidad óptica de DO: 0.08- 0.13 con el fin de tener una concentración equivalente a 1.5×10^8 UFC/mL, de acuerdo con lo reportado con el manual del CLSI (2020).

7.2.1.3 Montaje de microdilución en caldo

El montaje se realizó en placas de fondo redondo, en donde se realizaron diluciones seriadas para evaluar las concentraciones de los dos antibióticos desde 0.25 $\mu\text{g/mL}$ a 32 $\mu\text{g/mL}$, incluyendo dentro de este rango los puntos de corte sugeridos por el manual del CLSI (2020). Para colocar las muestras, se realizó una dilución del inóculo en el caldo (CAMHB), esta dilución se realizó de la siguiente manera, 10/1000 del inóculo, en un tubo eppendorf se colocando 990 μL de caldo CAMHB + 10 μL del inóculo para obtener una concentración 1×10^6 UFC/mL, para luego colocar 50 μL de dicha dilución en toda la placa de las disoluciones más concentradas a las más diluidas posteriormente se incubaron las placas de 18 a 24H a 37°C. La cepa control fue *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

7.2.1.4 Interpretación de resultados

La interpretación de los resultados se hizo teniendo en cuenta la inhibición del crecimiento en la concentración más baja del antibiótico a evaluar, una vez se conoce este valor para la evaluación de la susceptibilidad a Amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico se tuvo en cuenta que los aislamientos con valores menores o iguales 8 $\mu\text{g/mL}$ serán clasificados como

susceptibles, mayores de 8 y menor o igual a 16 µg/mL serán clasificados como intermedio y mayor o igual a 32 µg/mL se consideraran resistentes tal como se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Puntos de corte para los antibióticos Amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico. Tomado del Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) 2010 M100.

Criterios de interpretación MIC (µg/mL)			
Antibiótico	Susceptible	Intermedio	Resistente
Amoxicilina	≤ 8	16	≥ 32
Amoxicilina/ ácido clavulánico	≤ 8	16	≥ 32

7.2.1.5 Determinación de MIC₅₀ Y MIC₉₀

Para determinar el valor de MIC₅₀ y MIC₉₀, se hizo una lista con los resultados obtenidos para cada antibiótico (amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico) respetando el orden, es decir partiendo de los valores más bajos hasta los valores más altos en términos de µg/mL y con esta se calculó el valor de inhibición tanto para el 50% y el 90% de los aislamientos evaluados.

Plan de tabulación y análisis.

Se construyeron bases de datos en Microsoft Office 365. Las cuales fueron empleadas para calcular frecuencias de los bacilos entéricos por género y especie, además de la MIC₅₀ Y MIC₉₀ de los 100 aislamientos del estudio.

8. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente proyecto de investigación no realizó experimentación en humanos, animales ni organismos genéticamente modificados. Se acogió a las disposiciones vigentes para investigación básica *in vitro*. Esta investigación es una experimentación en el laboratorio y se utilizaron aislamientos clínicos de bacilos entéricos almacenadas en el cepario del Laboratorio de Microbiología Oral del instituto UIBO (Unidad de investigación Básica Oral) conservados a -80°C en caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón) con 10% de glicerol por lo cual, no requirió aval ético. Todos los experimentos se hicieron siguiendo las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud, resolución No 008430 de 1993 del ministerio de salud.

8.1 Sustento legal

La resolución 008430 de 1993, Título IV, Capítulo I en los artículos del 63 al 72, mencionan el respaldo legal que tiene el proyecto. Pues dentro de este se manipula material biológico por lo cual debe existir soporte de la bioseguridad empleada en el estudio. Por tal motivo la investigación puede ser enmarcada y definida como una investigación con un riesgo mínimo ético, por lo cual no requiere de ningún tipo de aval ético.

8.2 Consentimiento informado

Todos los pacientes que donaron su muestra para diferentes trabajos firmaron el consentimiento informado; muestra de donde se obtuvieron los diferentes aislamientos evaluados en el presente estudio.

9. RESULTADOS

9.1 Frecuencia de bacilos entéricos aislados de cavidad oral

Se identificó la frecuencia de géneros y especies de los aislamientos incluidos en la investigación y se encontró en mayor frecuencia *Enterobacter cloacae* (25.2%); *Klebsiella oxytoca* (16.4%); *Serratia marcescens* (14.5%); *Klebsiella pneumoniae* (12.6%); seguido de *Cronobacter sakazakii* (12.6%); *Enterobacter gergoviae* (5.8%); *Serratia liquefaciens* (4.8%) y *Enterobacter aerogenes* (1.9%) tal como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Identificación de bacilos entéricos en la totalidad de las muestras evaluadas

Bacteria	Frecuencia (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13 (12.6)
<i>Enterobacter cloacae</i>	26 (25.2)
<i>Serratia marcescens</i>	15 (14.5)
<i>Cronobacter sakazakii</i>	13 (12.6)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	17 (16.4)
<i>Enterobacter gergoviae</i>	6 (5.8)
<i>Serratia liquefaciens</i>	5 (4.8)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2 (1.9)

9.2 MIC 50 y MIC 90 de bacilos entéricos

El punto de corte para amoxicilina como para amoxicilina/ácido clavulánico: es sensible cuando es $\leq 8 \mu\text{g/mL}$, intermedio $16 \mu\text{g/mL}$ y resistente cuando es $\geq 32 \mu\text{g/mL}$. Respecto a la MIC para amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico los aislamientos presentaron resultados de MIC₅₀ y MIC₉₀ $\geq 32 \mu\text{g/mL}$. En los 97 aislamientos evaluados para amoxicilina se encontró en 2 (2.06%) aislamientos sensibles en el género *Enterobacter* y unen el género *Klebsiella* (1.03%). Por lo contrario, en los géneros *Serratia* y *Cronobacter* no se encontró ningún aislamiento sensible a este antibiótico. Cuando se evaluó la sensibilidad de los aislamientos a amoxicilina/acido clavulánico se encontraron 4 aislamientos sensibles del

género *Enterobacter* (4.12%), y dos aislamientos del género *Cronobacter*, en cuanto a los géneros *Klebsiella* y *Serratia* únicamente un aislamiento de cada género.

En la figura 6 y 7 se muestra un ejemplo de los resultados obtenidos para unos aislamientos evaluados por microdilución en caldo, la figura 6 corresponde al montaje de la placa para amoxicilina y la figura 7 corresponde al montaje de la placa para Amoxicilina /Acido clavulánico. En el montaje de la placa para cada uno de los antibióticos, las columnas 9, 10, 11 y 12 corresponden a los controles de la prueba de susceptibilidad, las filas A, B, C, D, E, F, G, y H corresponden a las concentraciones para cada uno de los antibióticos y las columnas marcadas con números corresponden a cada aislamiento.

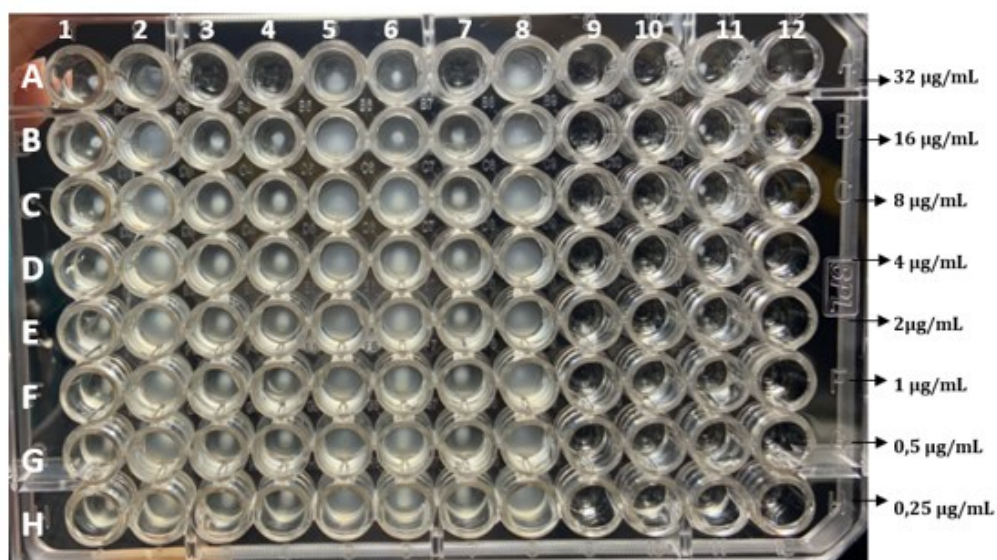


Figura 6. Se observa los resultados obtenidos para algunos de los aislamientos evaluados por microdilución para Amoxicilina. De la columna 1 a la columna 8 se observa los diferentes aislamientos evaluados. Se tuvieron presente tres controles que corresponden a la columna 9 y 12 (Control de esterilidad de la placa), columna 10 (Control de la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 con antibiótico y 11 (Control de la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 sin antibiótico).

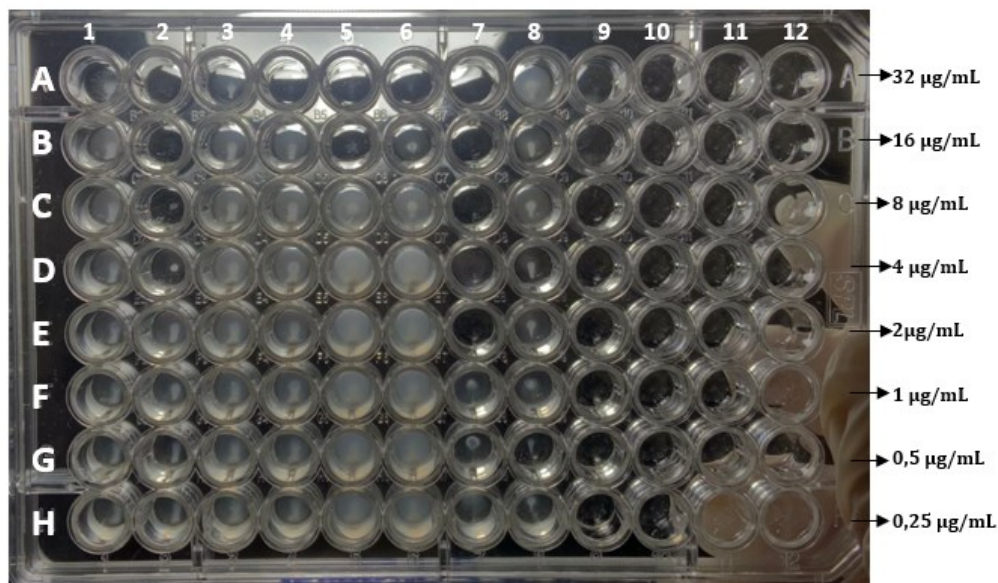


Figura 7. Se observa los resultados obtenidos para algunos de los aislamientos evaluados por microdilución en caldo de la columna 1 a la columna 6 para Amoxicilina/ ácido clavulánico. Se tuvieron presente tres controles que corresponden a la columna 7 (Control de validación de la MIC), columna 8 (Control de la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 sin antibiótico) y columna 9, 10, 11 y 12 (Control de esterilidad de la placa).

En la tabla 3 se encuentran los resultados de la MIC₅₀ y la MIC₉₀ tanto para amoxicilina como para amoxicilina/acido clavulánico en los 97 aislamientos. La susceptibilidad de los microorganismos evaluados frente a los antibióticos, muestran que tanto para amoxicilina como para amoxicilina/acido clavulánico fue resistente, ya que hubo crecimiento por encima de concentraciones de $\geq 32 \mu\text{g/mL}$ tanto en el 50 y el 90 % de los aislamientos de bacilos entéricos Gram negativos.

Tabla 3. Descripción de MIC₅₀ y MIC₉₀ en los aislamientos evaluados para amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico.

Bacteria	N° de aislamientos	Amoxicilina			Amoxicilina/ácido clavulánico		
		MIC Rango	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC Rango	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Cronobacter sakazakii</i>	13	0,125 - 32	32	32	0,125 - 32	32	32
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	0,125 - 32	32	32	0,125 - 32	32	32
<i>Enterobacter cloacae</i>	26	0,125 - 32	32	32	0,125 - 32	32	32
<i>Enterobacter gergoviae</i>	6	0,125 - 32	32	32	0,125 - 32	32	32
<i>Klebsiella oxytoca</i>	17	0,125 - 32	32	32	0,125 - 32	32	32
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	0,125 - 32	32	32	0,125 - 32	32	32
<i>Serratia liquefaciens</i>	5	0,125 - 32	32	32	0,125 - 32	32	32

10. DISCUSIÓN

Los bacilos entéricos son de importancia en el ámbito hospitalario por la variedad de infecciones que pueden provocar y su resistencia a los antibióticos más ampliamente usados (Leão-Vasconcelos *et al.*, 2015). En cavidad oral su presencia se puede deber a diferentes factores como ingesta de agua no potable contaminada, alimentos contaminados, mala higiene personal, contaminación ano-mano-boca, contaminación de cepillos dentales almacenados en ambientes sanitarios y contacto con aerosoles (Mayorga-Fayad *et al.*, 2007; Durán, 2012). Estudios como el de Slots *et al.*, (1991) describen que la presencia de estos puede persistir en el entorno subgingival después del raspaje alisado radicular y la cirugía, así como contribuir en la falla terapéutica. Así mismo juegan un papel importante en pacientes con implantes que fallan (Listgarten *et al.*, 1999). Su detección es muy importante en mucosas orales de pacientes inmune-comprometidos o con alguna comorbilidad ya que estas bacterias se han visto relacionadas con infecciones respiratorias potencialmente mortales debido a su alta resistencia a los antibióticos desarrollando enfermedades como neumonía y septicemias en pacientes inmunosuprimidos ya que producen varias enzimas que pueden degradar la membrana basal, inactivar componentes del complemento, producir leucotoxinas extracelulares y suprimir la proliferación de linfocitos (Ardila, 2010; Tada A *et al.*, 2010).

En el presente estudio se evaluaron 97 aislamientos, los cuales el 32.98 % pertenecen al género *Enterobacter* siendo el género más frecuente aislado de cavidad oral y la especie más frecuente fue *Enterobacter cloacae* encontrada en 25.2% de los aislamientos evaluados. Los microorganismos hallados con mayor frecuencia fueron *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* y *Cronobacter sazakii* estos resultados coinciden con los resultados del estudio reportado por Sanrrangers *et al.*, en el (2016) donde se evaluó la susceptibilidad de bacterias entéricas aisladas de prótesis dentales y se identificó la frecuencia de las bacterias entéricas en población de Brasil encontrando dentro del grupo de bacterias con mayor frecuencia *Klebsiella pneumoniae* (n=9); *Enterobacter aerogenes* (n=8); *Klebsiella oxytoca* (n=3); *Serratia marcescens* (n=3); *Serratia liquefaciens* (n=3); *Enterobacter cloacae* (n=3); *Enterobacter gergoviae* (n=2) y *Cronobacter sakasaki* (n=1) para un total de

(n=33) por lo tanto hay una coherencia con el trabajo presente. A pesar de que en el presente trabajo el género encontrado en mayor frecuencia fue *Enterobacter cloacae* a diferencia del estudio de Sanrangers *et al.*, en el 2016 otros autores colombianos como Jaramillo *et al.*, en el (2008) identificaron dentro del grupo de bacterias entéricas en cavidad oral mayor frecuencia a *Enterobacter cloacae* (n=23) y *Klebsiella pneumoniae* (n=17). En otro estudio realizado por Ardila *et al.*, (2010) se identificó que *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter cloacae* son las especies más prevalentes en los aislamientos de cavidad oral evaluados, Mayorga-Fayad *et al.*, 2007 identificaron *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Serratia* como los bacilos entéricos con mayor proporción su frecuencia estuvo dentro de un rango 10 a 15.2%, lo cual es coherente con el presente estudio.

Hoy por hoy, la mayoría de las infecciones que implican la presencia de bacterias entéricas son tratadas con antibióticos diferentes a los betalactámicos, ya que en las bacterias Gram negativas uno de los mecanismos de resistencia es la producción de betalactamasas que se excretan y concentran en el espacio periplásmico, entre la pared bacteriana y la membrana externa inhibiendo la acción específica de este grupo de antibióticos. Sin embargo, en este trabajo, se evaluó la susceptibilidad *in vitro* a amoxicilina/ácido clavulánico ya que son muy poco los datos que se tienen como vigilancia epidemiológica en aislamientos provenientes de cavidad oral, en Colombia, siendo de gran importancia en el ámbito odontológico debido a el gran uso de moléculas como amoxicilina/ácido clavulánico en esta área de la medicina (Patait *et al.*, 2015).

Por otro lado, dentro de la familia *Enterobacteriaceae* existe una gran variabilidad de patrones de resistencia natural, que además se ve incrementada por la posibilidad de adquirir genes de resistencia tanto de microorganismos de la misma especie como de otras. Aunque la resistencia a los antibióticos betalactámicos es ocasionada por distintos mecanismos (producción de enzimas, alteraciones de la permeabilidad, alteración de la diana y, presumiblemente, expresión de bombas de expulsión activa), el principal mecanismo de resistencia a betalactámicos en enterobacterias es el enzimático, por producción es la producción de betalactamasas lo cual podría explicar el alto porcentaje de resistencia encontrado en el presente estudio (Navarro *et al.*, 2010).

De acuerdo con los resultados obtenidos se evidencio que más del el 90% de los aislamientos presento resistencia a la amoxicilina y amoxicilina/acido clavulánico lo cual refleja una baja sensibilidad hacia los antibióticos más comúnmente usados en el campo de la odontología, estos resultados son consistentes con lo reportado por Silva *et al.*, 2016, en donde se encontró 86,5% de los bacilos anaerobios facultativos Gram-negativos resistentes a amoxicilina, así como, más de la mitad de ellos tenían resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico. Esto puede deberse a la producción de betalactamasas tal como lo describe Duytschaever *et al.*, 2013 el cual, evidenció que las bacterias entéricas producen β -lactamasas codificadas cromosómicamente y hay mutaciones en los promotores del gen de la β -lactamasas (*bla_{OXY-1}* y *bla_{OXY-2}*) lo cual, posiblemente conducen a una sobreproducción de las mismas provocando una resistencia a la amoxicilina con ácido clavulánico.

Actualmente se sabe que la resistencia a los antimicrobianos β -lactámicos en *Enterobacteriaceae* puede desarrollarse *in vivo* durante la quimioterapia o a factores naturales propios de estas bacterias. A pesar de que el consumo de antibióticos durante los últimos tres meses fue un criterio de exclusión en la toma de saliva de donde provinieron los aislamientos evaluados, la presencia de plásmidos, transposones o de genes convierten el tratamiento con este tipo de bacterias en todo un desafío en el área odontológica, el cual repercute en la respuesta clínica al tratamiento (Silva *et al.*, 2016). El presente estudio connota la importancia del uso de estos antibióticos en la práctica odontológica y responde al uso indiscriminado de antibióticos que actualmente es un problema en la población global.

11. CONCLUSIONES

Los microorganismos hallados con mayor frecuencia fueron *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* y *Cronobacter sazakii*. En el presente estudio los aislamientos evaluados presentan un perfil de resistencia a la amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico, se sugiere que los estos antibióticos que son frecuentemente usados en la práctica odontológica no son una alternativa de tratamiento para la contaminación con bacilos entéricos.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2005;43(11):5721-32.
- Abarca G, Herrera ML. Betalactamasas: su importancia en la clínica y su detección en el laboratorio. *Revista Medica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Saenz Herrera* 2001 Volumen 36(Número 1-2)Pag 7-104.
- Abraham EP, Chain E, Fletcher CM, Gardner AD, Heatley NG, Jennings MA, et al. Further observations on penicillin. *The Lancet* 1941;Volumen 238(Número 6155) Pag 177-189.
- Addy LD, Martin MV. Azithromycin and dentistry - a useful agent? *British dental journal* 2004 Aug 14,; Volumen 197(Número 3)Pag 141-143.
- Aguila, K., & Gómez, L. (2012). Resistencia a la amoxicilina y producción de betalactamasas de cepas de streptococcus mutans aislados de pacientes sanos, que acuden a tratamiento endodontico en la facultad de odontología de la pontificia universidad javeriana
- Al Rasheed A, Yagoub U, Alkhashan H, Abdelhay O, Alawwad A, Al Aboud A, et al. Prevalence and Predictors of Self-Medication with Antibiotics in Al Wazarat Health Center, Riyadh City, KSA. *BioMed research international* 2016 Vol 20 Pag 1-8
- Ardila CM, Alzate J, Guzmán IC. Asociación de Prevotella intermedia/nigrescens, bacilos entéricos gram-negativos y parámetros clínicos en periodontitis crónica. *Avances en Periodoncia* 2013 Dic,Volumen 3 Pag165-169.
- Ardila CM, Romero H, Guzmán IC. Enfoque multinivel de la relación entre bacilos entéricos Gram negativos, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, y parámetros clínicos en enfermedad periodontal. *Archivo médico de Camagüey* 2011 Jan 1;Volumen 15(Número 6) Pag 982-996.
- Ardila Medina C.M. Asociación potencial entre enterobacterias presentes en periodontitis y enfermedades sistémicas. *Acta odontol. venez* [Internet]. 2010
- Ardila Medina CM. Efecto de las enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral* 2010 Volumen 22(Número 1) Pag 27-35.
- Arponen S. Microbiota oral y estilo de vida como base para la salud oral y sistémica. *Salud oral y sistémica . El dentista moderno* Volumen 63 Pag 18-28.
- Bartold PM, Bois AH, Gannon S, Haynes DR, Hirsch RS. Antibacterial and immunomodulatory properties of azithromycin treatment implications for periodontitis. *Inflammopharmacol* 2013 Feb 28,; Volumen 21(Número 4) Pag 321-338.
- Bayles KW. The bactericidal action of penicillin: new clues to an unsolved mystery. *Trends in Microbiology* 2000; Volumen 8(Número 6) Pag 274-278.

Brito MG, Fernandes FI, Rocha F, Texeira V, Barroso FC. Prevalence and Susceptibility of Entero bacteriaceae Isolated from the Saliva of Students from the Northeast of Brazil. Global Journal of Medical Research: C Microbiology and Pathology 2016;Volumen 16(Número 2) Pag 13-17.

Brito MG, Fernandes FI, Ruliglesio F. Prevalence and Susceptibility of Enterobacteriaceae Isolated from the Saliva of Students from the Northeast of Brazil. Global Journal of Medical Research 2016 Sep Volumen 16 (Número 2) Pag 1-6.

Contreras A, Moreno SM, Jaramillo A, Pelaez M, Duque A, Botero JE, et al. Periodontal microbiology in Latin America. Periodontology 2000 2015 Feb,; Volumen 67(Número 1)Pag 58-86.

Dahlén G, Wikström M. Occurrence of enteric rods, staphylococci and *Candida* in subgingival samples. Oral Microbiol Immunol 1995: Volumen 10: Pag 42-46.

Dahlén G. Bacterial infections of the oral mucosa. Periodontology 2000 2008 Dic;Volumen 49(Número 1) Pag 13-38.

Darton TC, Tuyen HT, Newton PN, Dance DAB, Phetsouvanh R, Davong V, et al. Azithromycin Resistance in *Shigella* spp. in Southeast Asia. Antimicrobial agents and chemotherapy 2018 Mar 27,; Volumen 62(Número 4) Pag 1-9

Daza Pérez RM. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud 1998;Volumen 22(Número 3) Pag 58-66.

Duran j, (2012) bacterias entéricas en cavidad oral y fuentes de contaminación exógenas Bogotá, trabajo de grado D.C (1) 2 45

Duytschaever G, Huys G, Bekaert M, Boulanger L, De Boeck K, Vandamme P. Dysbiosis of bifidobacteria and *Clostridium* cluster XIVa in the cystic fibrosis fecal microbiota. J Cyst Fibros. 2013 Volumen 12(Número3)Pag 206-215

Dzidic M, Collado MC, Abrahamsson T, Artacho A, Stensson M, Jenmalm MC, et al. Oral microbiome development during childhood: an ecological succession influenced by postnatal factors and associated with tooth decay. The ISME Journal 2018 Jun Volumen 12(Número 9)Pag 2292-2306.

Escalante MG, Eubank TD, Leblebicioglu B, Walters JD. Comparison of Azithromycin and Amoxicillin Before Dental Implant Placement: An Exploratory Study of Bioavailability and Resolution of Postoperative Inflammation. Journal of periodontology (1970) 2015 Nov Volumen 86(Número 11) Pag 1190-1200.

Ferreira P, Amêndola I, Oliveira LD, Silva CR, Leão MV, Santos S. Prevalence and Sensitivity of Bacilli and Pseudomonas in the Newborn's Oral Cavity. Brazilian dental journal 2017 Aug;;28 Volumen 4 Pag 423-427.

Ferreira PVA, Amêndola I, Oliveira LDD, Silva, Célia Regina Gonçalves e, Leão MVP, Santos, Silvana Soléo Ferreira dos. Prevalence and Sensitivity of Bacilli and Pseudomonas in the Newborn's Oral Cavity. Brazilian dental journal 2017 Aug; Volumen 28(Número 4) Pag 423-427.

Ford P, Saladine C, Zhang K, Hollingworth S. Prescribing patterns of dental practitioners in Australia from 2001 to 2012. antimicrobials. *Australian dental journal*. 2017; Volumen 62(Número 1) Pag 52-57.

Gaetti-Jardim EC, Marqueti AC, Faverani LP, Gaetti-Jardim JE. Antimicrobial resistance of aerobes and facultative anaerobes isolated from the oral cavity. Journal of applied oral science 2010 Dec;18 Volumen 6 Pag 551-559.

Garcia, T., Castillo, A., & Salazar, D. (2014). *Mecanismos de resistencia a betalactámicos en bacterias gramnegativas*. Medi Graphic.

Gomes C, Martínez-Puchol S, Palma, Horna G, Ruiz-Roldán L, Pons MJ, et al. Macrolide resistance mechanisms in Enterobacteriaceae: Focus on azithromycin. Critical reviews in microbiology 2017 Jan 2;;Volumen 43(Número 1)Pag 1-30.

Gonçalves MO, Coutinho-Filho WP, Pimenta FP, Pereira GA, Pereira JAA, Mattos-Guaraldi AL, et al. Periodontal disease as reservoir for multi-resistant and hydrolytic enterobacterial species. Letters in applied microbiology 2007 May; Volumen 44(Número 5) Pag 488-494.

González NE, Zapata AC, Sánchez DF, Chávez M. Resistencia a antibióticos β-lactámicos y eritromicina en bacterias de la cavidad oral. Nova : publicación científica en ciencias biomédicas 2020 Jul ; Volumen 18(Número 34) Pag 27-45.

Huttner, A., Bielicki, J., Clements, M. N., Frimodt-Møller, N., Muller, A. E., Paccaud, J. -, & Mouton, J. W. (2020). Oral amoxicillin and amoxicillin-clavulanic acid: Properties, indications and usage. *Clinical Microbiology and Infection*, Volumen 26 (Número 7), Pag 871-879.

Jacobs MR, Felmingham D, Appelbaum PC, Grüneberg RN. The Alexander Project 1998–2000: susceptibility of pathogens isolated from community-acquired respiratory tract infection to commonly used antimicrobial agents. Journal of antimicrobial chemotherapy 2003 Aug;Volumen 52(Número 2) Pag 229-246.

Jaramillo Echeverri, Betancourth Quiroz M, Mayorga-Fayad I, Castillo Perdomo DM Aya Castañeda MR, Lafaurie Villamil GI, et al (2008) Antimicrobial Profiles of Subgingival Bacteria from Periodontitis Patients in Colombia Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral Volumen 1(Número 2) Pag 61-65

Kilian M, Chapple ILC, Hannig M, Marsh PD, Meuric V, Pedersen AML, et al. The oral microbiome – an update for oral healthcare professionals. *British dental journal* 2016 Nov 18 Volumen 221(Número 10) Pag 657-666.

Lafaurie GI, Sabogal MA, Castillo DM, Rincón MV, Gómez LA, Lesmes Y,A., et al. Microbiome and Microbial Biofilm Profiles of Peri-Implantitis: A Systematic Review. *Journal of periodontology* 2017 Oct,; Volumen 88(Número 10) Pag 1066-1089.

Leão-Vasconcelos LS, Lima ABM, Costa DM, Rocha-Vilefort LO, Oliveira AC, Gonçalves NF, et al. Enterobacteriaceae isolates from the oral cavity of workers in a brazilian oncology hospital. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 2015 Mar; Volumen 57(Número 2) Pag 121-127.

Legg JA, Wilson M. The prevalence of beta-lactamase producing bacteria in subgingival plaque and their sensitivity to Augmentin. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1990 Jun; Volumen 28(Número 3)

Listgarten MA, Lai CH. (1990) Comparative microbiological characteristics of failing implants and periodontally diseased teeth. *J Periodontol.*; Volumen 70 Pag 431-7.

Lu M, Xuan S, Wang Z. Oral microbiota: A new view of body health. *Food Science and Human Wellness* 2019; Volumen 8(Número 1) Pagina 8-15.

Malbran, C. G. (2012). Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana. Marín M, Gudiol F. Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* 2003; Volumen 21(Número 1) Pag 42-55.

Marín, M., & Gudiol, F. (2003). Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica*, 21(Volumen 1), Pag 42-55.

Mayorga I, Lafaurie GI, Contreras A, Castillo DM, Barón A, Aya MR. Subgingival microbiota in chronic and aggressive periodontitis in Bogotá, Colombia: an epidemiological approach. *Biomédica* 2007 Mar Volumen 27(Número 1):21-33.

Mouratidou, Karbach J, d'Hoedt B, Al-Nawas B. Antibiotic Susceptibility of Cocultures in Polymicrobial Infections Such as Peri-Implantitis or Periodontitis: An In Vitro Model. *Journal of Periodontology* 2011;Volumen 82(Número 9) Pag 1360-1366.

Navarro F, Miro E, Mirelis B. Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias, *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*.2010; Volumen 29 (Número 9) Pag 639-644.

Oberoi SS, Dhingra C, Sharma G, Sardana. Antibiotics in dental practice: how justified are we. *Int Dent J* 2015 Volumen 65(Número 1) Pag 4-10.

Ramos MM, Gaetti-Jardim EC, Gaetti-Jardi JE. Resistance to tetracycline and β -lactams and distribution of resistance markers in enteric microorganisms and pseudomonads isolated from the oral cavity. *Journal of applied oral science* 2009;Volumen 17 Pag13-18.

Rams TE, Degener JE, van Winkelhoff AJ. Antibiotic resistance in human peri-implantitis microbiota. *Clin Oral Impl Res* 2014 Volumen 25(Número 1) Pag 82-90.

Ranganathan A, Sarathy S, Chandran C, Iyan K. Subgingival prevalence rate of enteric rods in subjects with periodontal health and disease. *Journal of Indian Society of Periodontology* 2017 May 1,; Volumen 21(Número 3) Pag 224-228.

Ranganathan, A. T., Sarathy, S., Chandran, C. R., & Iyan, K. . Subgingival prevalence rate of enteric rods in subjects with periodontal health and disease. *Journal of Indian Society of Periodontology*, Volumen 21(Número 3) Pag 224–228.

Rodríguez E, Rodríguez MT. Tratamiento antibiótico de la infección odontogénica. *Revista Terapeutica* 2009;Volumen 33(Número 3) Pag 67-79.

Sánchez-B. P, Muñoz-M. R, Gutiérrez-M. NP. Resistencia bacteriana a los antibióticos: mecanismos de transferencia. *Spei Domus* (2012) [Internet]. 1

Schumacher, A., Vranken, T., Malhotra, A. *et al.* In vitro antimicrobial susceptibility testing methods: agar dilution to 3D tissue-engineered models. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* Volumen 37 Pag187–208 (2018).

Sedgley CM, Samaranayake LP. Antimicrobial susceptibility of oral isolates of *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae* from a southern Chinese population. *Oral Microbiol Immunol* 1998 Volumen 13 (Número 5) Pag 315-321.

Segura-Egea JJ, Gould K, Şen BH, Jonasson P, Cotti E, Mazzoni A, et al. Antibiotics in Endodontics: a review. *International endodontic journal* 2017 Dec; Volumen 50(Número 12) Pag 1169-1184.

Silva SS, Ribeiro MdO, Gomes FIF, Chaves HV, Silva, Antonio Alfredo Rodrigues E, Zanin ICJ Occurrence and antimicrobial susceptibility of enteric rods and pseudomonads isolated from the dental prostheses biofilm. *Journal of applied oral science* 2016 Sep;24(Volumen 5) Pag 462-471.

Slots J, Listgarten MA. *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1988 Volumen 15(Número 2) Pag 85-93.

Suarez C, Gudiol F. Antibióticos betalactámicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(2):116–129

Tada A, Hanada N. Opportunistic respiratory pathogens in the oral cavity of the elderly. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2010 Oct Volumen 60(Número 1) Pag1-17.

Teoh L, Stewart K, Marino R, McCullough M. Current prescribing trends of antibiotics by dentists in australia from 2013 to 2016. part 1. *Australian dental journal*. 2018 Volumen 63(Número 3) Pag 329-337.

Todd, P. A., & Benfield, P. (1990). Amoxicillin/clavulanic acid-an update of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs (New York, N.Y.)*, *Volumen 39*(Número 2)Pag 264-307.

Vignoli R, Seija V . Principales mecanismos de resistencia antibiótica. Temas de bacteriología y virología médica. Pag 649-662.

Zaatout N. Presence of non-oral bacteria in the oral cavity. *Arch Microbiol* [Internet]. 2021;203(6):2747–60

Zhao H, Chu M, Huang Z, Yang X, Ran S, Hu B Variations in oral microbiota associated with oral cancer. *Scientific reports* 2017 Volumen 18 (Número 7) Pag 1-8.