



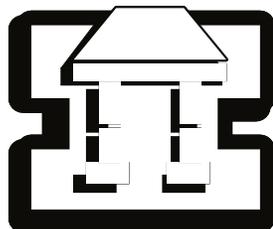
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

RESPUESTA DE CEPAS BACTERIANAS
AISLADAS DE CONDUCTOS RADICULARES
INFECTADOS CON ANTIBIOTICOS DE USO
COMÚN

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I Ó L O G O
P R E S E N T A :
MARCO ANTONIO CASTILLO SOLANO

DIRECTORA DE TESIS:
M. en C. GLORIA LUZ PANIAGUA CONTRERAS



TLALNEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO, SEPTIEMBRE 2005



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

“.....Si las cosas fueran fáciles, cualquiera las haría.....

.....Yo no soy cualquiera.....

.....¿ Y tu ?.....”

DEDICATORIAS

A mis padres Guadalupe Solano Flores y Marco Antonio Castillo Gonzáles, siempre apoyándome en las buenas y en las malas, no importando la situación en que se encontraban, nunca perdieron la fe en mi.

A mis hermanos Claudia, Yazmín, Abraham y Salome, que siempre están ahí, viendo como continué a pesar de las críticas.

Mis sobrinos Isaac y Kazou.

A mi sobrina Yocelyn, que hoy estas junto a Dios.
Jamás te olvidare pequeña.

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

A la M. en C. Gloria Luz Paniagua Contreras por dar su apoyo en la elaboración de esta tesis. Tomando de ella la perseverancia y disciplina que uno necesita para continuar adelante. Es una gran maestra en la enseñanza de la Biología.

Al M. en C. Eric Monroy Pérez siempre dando a uno el empuje en continuar uno su trabajo hasta el final. Con sus enseñanzas uno podrá ponerlos en práctica en el futuro al tener uno un buen maestro.

Al Dr. Sergio Vaca Pacheco por su disponibilidad y tiempo en la revisión de esta tesis, aun con el apoyo que da a sus proyectos y la carrera de Biología.

Al M. en C. Sergio Cházaro Olvera por el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis.

A la Biol. Susana E. Gonzáles Almazán por el tiempo y la paciencia que tuvo conmigo en el laboratorio, además de la revisión de esta tesis.

A LA Sra. PAULINA

Doñita, usted siempre estuvo ahí para corregir a uno, dar su apoyo y nunca perder la esperanza aun en momentos difíciles, un buen ejemplo a seguir.

A NANCY

Gracias a tu ayuda pude tener unos buenos maestros para elaborar mi tesis.

A IMELDA, MIGUEL ANGEL, RAFA

Estuvimos juntos en el laboratorio y cada uno tomo su camino para bien.

INDICE

RESUMEN	7
INTRODUCCION	8
ANTECEDENTES	19
OBJETIVO GENERAL	22
METODOLOGIA	23
RESULTADOS	26
DISCUSION	50
CONCLUSIONES	60
BIBLIOGRAFIA	61

RESUMEN

En los últimos años el uso indiscriminado de los antibióticos a ocasionado que las bacterias se seleccionen como resistentes a estos agentes, debido a lo anterior el objetivo de este trabajo fue valorar la resistencia a la Ampicilina, Penicilina, Amoxicilina, Ceftazidima, Oxitetracilcina, Ampicilina más Sulbactam, Cefotaxima y Clindamicina en 39 cepas bacterianas aisladas de pacientes con los conductos radiculares infectados. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los antibióticos se realizo por el método de dilución en placa.

La mayoría de las cepas Grampositivas y Gramnegativas analizadas en este estudio fueron resistentes a la Ampicilina, Penicilina, Amoxicilina, Ceftazidima, Oxitetraciclina y Clindamicina (CMI • 4000 µg/ml). El 100% de las cepas fueron sensibles a la Ampicilina más Sulbactam y Cefotaxima (CMI • 3.9 µg/ml). El 42% de cepas Grampositivas y el 100% de las Gramnegativas fueron productoras de β-lactamasas. Los resultados encontrados en este estudio refleja la importancia de probar la susceptibilidad a los antibióticos en las bacterias responsables de las infecciones radiculares, con la finalidad de prescribir el antimicrobiano más eficaz

INTRODUCCIÓN

DEFINICION, MORFOLOGIA Y DESARROLLO DE LA CARIES

La caries dental es considerada como uno de los principales problemas de salud mundial que ocasiona la pérdida de los dientes. La caries dental es una enfermedad infecto contagiosa, que se caracteriza por la desmineralización de los tejidos duros del diente. Afecta a más del 95% de la población mexicana, y en los últimos años se ha encontrado entre las tres patologías de mayor demanda de atención en los Servicios de Salud. La caries dental puede clasificarse con respecto al tipo de lesión. La caries de fosas y fisuras aparece en molares, premolares y superficies palatina de incisivos superiores; la caries de superficie lisa, en proximales; la caries radicular en cemento o dentina, o ambos, cuando la raíz está expuesta al medio ambiente oral; y la caries recurrente, aparece cuando se asocia a una restauración preexistente.

El proceso de caries se inicia en el esmalte de la corona de los dientes, y cuando se presenta migración gingival; el proceso carioso puede establecerse también en la porción radicular del diente, atacando el cemento dentario y posteriormente la dentina radicular. La caries dental es un proceso infeccioso en el que varios microorganismos de la placa dentobacteriana, como *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, producen ácidos que atacan principalmente el componente inorgánico del esmalte dental, provocando su desmineralización; este fenómeno, de no ser revertido a través de la remineralización, produce pérdida de sustancia dentaria, que trae consigo la formación de cavidades.³⁶

En el delicado balance entre la remineralización y la desmineralización intervienen factores dietéticos, tanto en relación con el potencial acidogénico de los alimentos, como en cuanto al contenido de sustancias alimenticias que inhiben la desmineralización (las bacterias se alimentan gracias a la fermentación de los azúcares contenidos en los alimentos, sobre todo en los dulces y bebidas azucaradas, como resultado de su digestión, las bacterias producen diferentes tipos de ácido). En este proceso también influye la resistencia propia del esmalte al ataque de los ácidos, así como la higiene bucal que el individuo mantenga. La microbiota oral es extraordinariamente compleja. Se ha llegado a aislar hasta 200 especies distintas en una misma cavidad bucal en el transcurso del tiempo; la mayor parte tendría la característica de ser transitoria, de forma que como residente solo quedarían

unas 20 especies aproximadamente. A continuación en la **Tabla I** encontramos algunos de los microorganismos que constituyen esta microbiota, especialmente los de carácter de residente o autóctono⁵⁸. Los ácidos producidos por las bacterias disuelven el flúor y los cristales minerales que forman parte del esmalte y la dentina. Como consecuencia, se forma una cavidad en el diente que es como se conoce con el nombre de caries.

Cocos Grampositivos. <i>Streptococcus pyogenes,</i> <i>Enterococcus spp., Staphylococcus</i> <i>spp., Micrococcus spp., (anaerobios)</i> <i>Peptostreptococcus spp. y</i> <i>Peptococcus spp.</i>	Bacilos Grampositivos. <i>Actinomyces spp., Lactobacillus spp. y</i> <i>Bifidobacterium spp.</i>
Cocos Gramnegativos. <i>Neisseria spp. y Veillonella spp.</i>	Bacilos Gramnegativos. <i>Prevotella spp., Porphyromonas spp.,</i> <i>Fusobacterium spp., Capnocytophaga</i> <i>spp., Actinobacillus spp., Eikenella spp.,</i> <i>Campilobacter spp. y Haemophilus spp.</i>
Otros microorganismos. Espiroquetas comensales, hongos como <i>Candida albicans</i> , <i>Micoplasma spp.</i> y los escasos protozoos pertenecientes a las especies <i>Trichomonas tenax</i> y <i>Entamoeba gingivalis</i> .	

TABLA I. Microorganismos de la microbiota oral.

Formación de la caries dental

El proceso de formación se agrupa en 4 etapas principales^{36,60}:

I Etapa: Las bacterias de la placa dental, al contacto con la glucosa, inician el proceso de fermentación y producen ácidos. Al comienzo solo unos pocos cristales de calcio y otros minerales del esmalte son disueltos por el ácido producido por las bacterias. La pequeña zona del esmalte, sometida a la acción del ácido, se debilita, se pone porosa y tiene la apariencia de una mancha color blanco mate, conocido con el nombre de "punto débil". En esta etapa es fácilmente controlable el proceso de formación de la caries, sin necesidad de recurrir a un odontólogo, siempre que se apliquen las medidas adecuadas que son: higiene bucal, mediante el uso de pasta dentrífica rica en flúor (que facilita el endurecimiento de los dientes) y reduciendo o eliminando los alimentos o bebidas azucaradas. De no aplicarse estas medidas se inicia la segunda etapa:

II Etapa: Al continuar consumiendo alimentos y bebidas azucaradas, crece el número de bacterias y, con ellas, aumenta la cantidad del ácido, el cual sigue debilitando el esmalte hasta provocar una pequeña cavidad. Ésta con frecuencia no se observa porque queda obstruida por la placa dental y residuos de alimentos. En esta etapa todavía no duele el diente, pero su cura sólo es posible mediante la reparación de la caries, efectuada por un odontólogo. Si no detenemos esta etapa, el proceso de formación de la caries continúa hacia adentro y se inicia la tercera etapa.

III Etapa: La desmineralización provocada por los ácidos de las bacterias llega a la dentina, la cual, por ser más blanda que el esmalte, facilita que las caries avance mucho más rápido y se haga más profunda. En esa etapa, al igual que en las anteriores, la caries puede ser reparada fácilmente por el odontólogo. De no hacerse, se inicia la 4° etapa.

IV Etapa: Esta última etapa se inicia cuando las caries ha avanzado a través del esmalte y la dentina, hasta llegar a la pulpa dental y al nervio. Allí, las bacterias con sus ácidos infectan la parte sensible del diente y comienza un dolor que puede llegar a ser muy intenso. La inflamación del diente puede ampliarse a las mandíbulas y a la cara. Llegados a esta etapa, si deseamos eliminar el dolor y curar las caries y evitar perder el diente, es imprescindible someternos a un tratamiento de conducto, que es un proceso doloroso, en algunos casos, y costoso.

Como se ha visto, la mayor parte de las patologías de la pulpa dental y tejidos perirradiculares están directa o indirectamente relacionadas con microorganismos. Es importante la identificación de las bacterias asociadas a patologías de origen endodóntico para así tener un conocimiento completo de los procesos patológicos que se llevan a cabo y escoger el tratamiento más adecuado.

ESTADO BACTERIOLÓGICO DEL CONDUCTO RADICULAR CON NECROSIS PULPAR

La necrosis o muerte del tejido pulpar es una secuela de la inflamación crónica o aguda de la pulpa o consecuencia de un arresto inmediato de la circulación por injuria traumática. Puede ser parcial o total dependiendo de la extensión del tejido pulpar involucrado.

Se pueden identificar 2 tipos de necrosis, un flujo de pus desde una cavidad de acceso indica necrosis por licuefacción, que es asociada con un buen suplemento sanguíneo y un exudado inflamatorio (enzimas proteolíticas han licuado y resblandecido el tejido): la necrosis por coagulación es asociada con la disminución o bloqueo total del riego sanguíneo a un área (isquemia). El tejido puede tener la apariencia de una masa blanda, con una consistencia cremosa, compuesta principalmente por proteína coagulada, grasa y agua. Los productos de la necrosis son tóxicos para los tejidos periapicales y pueden iniciar una respuesta inflamatoria.^{13,36,60} La descomposición de proteínas por bacterias anaeróbicas se conoce como putrefacción.

La pulpa está encerrada y delimitada por paredes rígidas, no tiene circulación sanguínea colateral y sus venulas y linfáticos se colapsan cuando incrementa la presión tisular; por lo tanto una pulpitis irreversible; que se define como una inflamación severa de la pulpa que no se resuelve hasta que la causa es removida, rápidamente progresa a necrosis por licuefacción. Si el exudado producido durante la pulpitis irreversible es absorbido o drenado a través de caries o exposición pulpar hacia la cavidad oral, la necrosis tarda un poco más en desarrollarse y la pulpa radicular se mantiene vital por un período largo.

En contraste, el encierro de una pulpa inflamada induce rápidamente a una necrosis pulpar total y patosis (lesión patológica) perirradicular. El tejido pulpar puede mantenerse inflamado por largos períodos y puede convertirse en necrótico eventualmente o llegar a ser necrótico rápidamente. Este evento depende de varios factores: a) virulencia de las bacterias b) la capacidad de secretar fluidos inflamatorios para disminuir el incremento en la presión intrapulpar c) resistencia del huésped d) cantidad de circulación y mas importante e) drenaje linfático.

Debido a la pérdida de circulación dentro de la pulpa necrótica, los mecanismos de defensa del huésped (inflamación e inmunidad) están ausentes o comprometidos; la cavidad pulpar se convierte en un reservorio para microbios invasores. El sistema del conducto radicular se convierte en un ambiente especial para un grupo específico de bacterias.

El fluido tisular y las células desintegradas del tejido necrótico forman un sustrato de nutrientes (especialmente polipéptidos y aminoácidos) esenciales para los microorganismos. Estos nutrientes, la tensión baja de oxígeno y las interacciones bacterianas son la llave ecológica que determina

que bacterias predominarán. Estas condiciones favorecen el crecimiento de anaerobios capaces de metabolizar péptidos y aminoácidos más que carbohidratos.

El crecimiento de una especie bacteriana dependerá de otras especies comensales que proveen nutrientes esenciales como bioproductos metabólicos. En los humanos, cuando las bacterias alcanzan la pulpa, esta se inflama pero permanece vital por algún tiempo, o se vuelve necrótica rápidamente. Los microorganismos invaden la pulpa necrótica, la colonizan, se multiplican e infectan el sistema de conductos radiculares, incluyendo los tubulillos dentinales.^{13, 36}

De las más de 350 especies de bacterias reconocidas como normales en la flora oral, solo un grupo relativamente pequeño son comúnmente aisladas de pulpas necróticas. Hay un predominio de bacterias anaeróbicas estrictas, con algunos anaerobios facultativos y raramente aerobias.

Entre los microorganismos más comunes implicados en infecciones pulpares como perirradiculares se encuentran las siguientes bacterias (Tabla II)⁵⁸:

Anaerobios obligados		Anaerobios facultativos	
Cocos Grampositivos <i>Peptostreptococcus</i>	Cocos Gramnegativos <i>Veillonella</i>	Cocos Grampositivos <i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Staphylococcus</i>	Cocos Gramnegativos <i>Neisseria</i>
Bacilos Grampositivos <i>Actinomyces</i> <i>Eubacterium</i> <i>Propionibacterium</i>	Bacilos Gramnegativos <i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Selonomonas</i> <i>Treponemas</i> <i>Campylobacter</i> <i>Mitsoukella</i>	Bacilos Grampositivos <i>Actinomyces</i> <i>Lactobacillus</i>	Bacilos Gramnegativos <i>Capnocytophaga</i> <i>Eikenella</i>

TABLA II. Principales bacterias que ocasionan infección bucal en los humanos

CONTROL DEL DESARROLLO DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES Y EL TRATAMIENTO CON ANTIMICROBIANOS

La gingivitis y la periodontitis son infecciones principalmente bacterianas. La asociación entre las bacterias y el comienzo y desarrollo de las enfermedades gingivoperiodontales ha incrementado el interés en la aplicación de antimicrobianos locales y/o sistémicos como adyuvantes del tratamiento mecánico.

El control mecánico constituye el método más importante para la vigilancia de la placa dental, que incluye: control de la infección supragingival y sus condicionantes y control de la infección subgingival y sus condicionantes. La enseñanza y evaluación de técnicas de higiene bucal y la eliminación de condicionantes de placa (cálculo supragingival, obturaciones desbordantes) son las estrategias para controlar la infección. Si bien en el tratamiento de la gingivitis estos procedimientos son suficientes, en las periodontitis representa el primer paso y la continuación debe realizarse en el raspado y alisado radicular para controlar la infección subgingival, lo que incluye la eliminación de la microbiota subgingival, las endotoxinas, el cálculo subgingival y el cemento infectado, esto por medio de instrumentación manual.⁶⁰

El control de la placa supragingival se realiza por medio de la aplicación local de antimicrobianos. Se han incluido agentes antimicrobianos en dentríficos, geles, barnices, colutorios, reservorios de aplicación local, chicles y soluciones para irrigación supragingival. Los más comunes usados sobre placa supragingival como subgingival son: Bisbiguaninas (Clohexidina), compuestos de amonio cuaternario, compuesto y derivados fenólicos (Listerine, Triclosán), sales de metales pesados (zinc, estaño, cobre), peróxidos, yodo, aplicación tópica de antibióticos (Tetraciclina, Minociclina), etc.^{58,60}

Los avances logrados en la microbiología subgingival en los últimos años, ha permitido identificar especies anaerobias Gramnegativas asociadas con patología periodontal de carácter destructivo y comienzo temprano. La periodontitis refractaria es considerada por muchos investigadores como una entidad patológica diferente con múltiples sitios que no responden a la terapia convencional. Estos pacientes continúan con pérdida de inserción y de hueso alveolar a pesar de un tratamiento periodontal frecuente que incluye el control de la placa supragingival, raspaje y alisado radicular y cirugía. En escasas

oportunidades está indicando un tratamiento antibiótico convencional, pero cuando es necesario resulta conveniente conocer la sensibilidad antimicrobiana de la biota periodontal.

Resistencia bacteriana a los antibióticos

Se ha descrito que el principal factor de la selección bacteriana a los antibióticos es el debido al uso irracional de estos agentes, tanto para uso humano, como veterinario y agrícola ^{16,63}. El fenotipo de resistencia bacteriana a los antibióticos frecuentemente se encuentra conferido en plásmidos. ^{12,58}

Los plásmidos son moléculas circulares de DNA que les confiere a las bacterias que los porta actividades metabólicas adicionales no vitales, pero si importantes sobre todo en ambientes hostiles ^{52,58}. Se ha descrito que los plásmidos pueden ser transferidos de una bacteria a otra, inclusive de géneros diferentes, lo que representa una importante fuente de diseminación de los genes que codifican la resistencia bacteriana, sobre todo en los hospitales ^{40,53,57}. Los principales mecanismos de acción de los antibióticos y los mecanismos de resistencia por parte de las bacterias, tanto plasmídicamente como cromosómicamente se aprecian en la (**Tabla III**)

ANTIBIÓTICOS	Mecanismos de acción	Blanco de acción	Mecanismos de resistencia	Base genética
<i>β-lactámicos</i> Penicilina Cefalosporinas	Inhibición de la síntesis de la pared celular.	Proteínas de unión de la penicilina (PBPs).	<ul style="list-style-type: none"> • Hidrólisis del anillo β-lactámico (β-lactamasas). • Alteración del blanco (PBPs). 	Plásmido y Cromosoma.
Macrólidos y Lincosamidas	Inhibición de la síntesis de proteínas.	Subunidad 50s del ribosoma.	<ul style="list-style-type: none"> • Mutilación del material 23s (metilasa). • Hidrólisis de la lactona de eritromicina (eritromicinesterasa). 	Plásmido y Cromosoma
Clorafenicol	Inhibición de la síntesis de proteínas.	Subunidad 50s del ribosoma.	<ul style="list-style-type: none"> • Modificación del antibiótico evitando su unión al ribosoma (clorafenicol acetil transferasa). 	Plásmido.
<i>Aminoglucosidos</i> Estreptomina Neomicina Kanamicina Gentamicina	Inhibición de la síntesis de proteínas.	Subunidad 50s del ribosoma.	<ul style="list-style-type: none"> • Modificación del antibiótico impidiendo su transporte (acetil transferasa, fosfatidil transferasa, adenil transferasa metilasa). • Modificación de la subunidad 50s del ribosoma. • Disminución de la captación por la célula. 	Plásmido y Cromosoma. Plásmido. Cromosoma.
Quilononas y Ácido Nalidixico	Inhibición de la Replicación, Transcripción, Recombinación y Superenrollamiento del ADN.	ADN girasa.	<ul style="list-style-type: none"> • Mutación sobre ADN girasa. • Disminución de la permeabilidad. • Eflujo. 	Cromosoma. Cromosoma. Cromosoma.
<i>Tetraciclinas</i>	Inhibición de la síntesis de proteínas.	Proteína de la subunidad ribosómica 30s.	<ul style="list-style-type: none"> • Interferencia por el transporte de la droga (proteínas inducibles) 	Plásmido.
<i>Sulfonamidas</i> Trimetoprim	Inhibición de la síntesis de Ácido Fólico.		<ul style="list-style-type: none"> • Síntesis de vía alterna no sensible al fármaco. 	Plásmido.

Tabla III. Mecanismos de acción y de resistencia de los antibióticos por las bacterias.

Resistencia a antibióticos β -lactámicos

Se ha reportado que el mecanismo de resistencia bacteriana más importante a los antibióticos β -lactámicos es la producción de β -lactamasas, estas enzimas hidrolizan el enlace amida del anillo β -lactámico, originando un compuesto sin actividad antibacteriana (ácido peniciloico).⁷⁴

Las β -lactamasas pueden ser codificadas por plásmidos, o como en el caso de algunas bacterias Gramnegativas por el cromosoma bacteriano (es probable que la mayoría produzca cuando menos una β -lactamasa y que éstas sean específicas para género y especie).⁷⁴

Las β -lactamasas de las bacterias Grampositivas se excretan extracelularmente y destruyen el antibiótico antes que entre en contacto con la superficie de la célula, en tanto que las producidas por las Gramnegativas se sitúan en el espacio periplásmico presentando una barrera para la difusión de las cefalosporinas al interior de las células.⁷⁴

En *S. aureus* se han descrito cuatro diferentes tipos de penicilinasas (A, B, C y D)⁶⁶, que difieren en su estructura solamente en pocos aminoácidos, lo que conduce a tasas de hidrólisis distintas; por ejemplo, A y B hidrolizan rápidamente a la Bencilpenicilina y la Ampicilina, pero muy poco a la Meticilina y Cloxacilina. Con excepción de la Penicilinasas D, cuya expresión es constitutiva⁶⁸ todas son inducibles y la mayoría de su actividad es extracelular.⁶⁶

Otro de los mecanismos de resistencia que presentan las bacterias a los antibióticos β -lactámicos es debido a mutaciones cromosómicas que alteran la cantidad o afinidad de proteínas de membrana externa llamadas PBPs (Penicillin Binding Proteins). La introducción en 1960 de la Meticilina, un compuesto derivado de la Penicilina y resistente a β -lactamasa, fue seguida rápidamente por la aparición de cepas resistentes.

La resistencia a Meticilina se debe, probablemente, a la proteína PB2a que tiene baja afinidad por los compuestos β -lactámicos³⁰. En *S. aureus* se han descrito mutaciones que alteran las PBPs confiriéndole resistencia a Cefradrina²², así como también, un transposón que codifica para una β -lactamasa. Este elemento genético móvil, designado Tn552, está constituido por 6,700 pares de bases y se encuentra tanto en plásmidos como en el cromosoma.⁶⁹

Para combatir a las cepas productoras de β -lactamasas se han desarrollado las cefalosporinas, cuyo grado de resistencia a β -lactamasas es variable; éstas incluyen a las cefalosporinas de segunda generación (Cefoxitina, Cefamandol y Cefuroxima) y a las de tercera generación (Cefotaxima, Moxalactam, Cefoperazone y otras).

También se han introducido antimicrobianos resistentes a la penicilinas producida por *S. aureus*, éstos incluyen a las penicilinas semisintéticas: Meticilina, Oxacilina, Nafclicina y otras.⁶⁶

Otra de las estrategias utilizadas contra cepas productoras de β -lactamasas es la combinación de β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas, de los que uno de ellos es un producto natural del *Streptomyces clavuligerus* (Acido Clavulánico) y el otro es totalmente sintético (Sulbactam)¹⁵. Estos inhibidores de β -lactamasas poseen una estructura química similar a los antibióticos pero con actividad antimicrobiana deficiente, sin embargo, cuando se combinan con un antibiótico β -lactámico restauran su actividad sobre microorganismos resistentes a éste. El ácido clavulánico se ha combinado con Amoxicilina o Ticarcilina y el Sulbactam con Ampicilina o Cefoperazone.¹⁵

Las cefalosporinas de tercera generación y los carbapenos surgieron como una necesidad ante la presencia de bacilos Gramnegativos productores de β -lactamasas, tanto como cromosómicos como plasmídicos⁵⁴, capaces de inactivar los β -lactámicos en uso. Actualmente se describen unas doscientas β -lactamasas, de las cuales hay un gran número de espectro expandido, capaces de inactivar los nuevos grupos de β -lactámicos, las descritas mas recientemente se encuentran en la mayoría de bacterias Gramnegativas.

La producción de β -lactamasas puede ser constitutiva o inducible, al ser afectada por la exposición al antimicrobiano. La constitutiva mantiene un nivel estable y basal, independientemente del estímulo externo. Las β -lactamasas inducible se produce en gran cantidad después de la exposición a un determinado β -lactámico inductor. La inducción de por β -lactámicos puede aumentar la producción de β -lactamasas tanto como mil veces.

Las β -lactamasas mediadas por plásmidos en Gramnegativos son comúnmente constitutivas. Las β -lactamasas cromosomicas de bacterias Gramnegativas pueden ser altamente inducibles en presencia de un particular β -lactámico. Algunas cefalosporinas de segunda y tercera generación

(Cefoxitin, Moxalan, Cefotaxima) son resistentes a la hidrólisis ante algunas β -lactamasas, pero han demostrado habilidad para inducir la producción de estas enzimas por algunos microorganismos. De esta manera, existe potencial para el antagonismo entre β -lactámicos si esta presente uno que sea fuerte inductor de β -lactamasas.⁵³

Las β -lactamasas producidas por microorganismos Gramnegativos se concentran en el espacio periplásmico, y se producen en mucha menor cantidad., mientras que las producidas por las bacterias Grampositivas se localizan en el exterior y en gran cantidad.

En Gramnegativos la perturbación de las síntesis de peptidoglicanos de la pared lleva a la acumulación de sus precursores en el espacio periplásmico, produciendo éstos la señal para la producción enzimática¹⁰ en el mismo espacio, donde se acumula la β -lactamasa producida en menor cantidad que en Grampositivos.

El camino más obvio para acabar con la resistencia debida a las β -lactamasas es desarrollar un compuesto que las inactive. La gran y frecuente producción de β -lactamasas como mecanismos de resistencia condujo a la síntesis y purificación de sustancias que inhiben su actividad; son los inhibidores de β -lactamasas. Estos inhibidores trabajan bloqueando dichas enzimas, y representan el mecanismo más específico desarrollado para evadir la resistencia a los β -lactámicos clásicos como Ampicilina, Amoxicilina, Piperacilina, Ticarcilina, entre otros. Lamentablemente su eficacia clínica es limitada, pues son solo capaces de inactivar algunas β -lactamasas.⁵³

La idea de que un β -lactámico puede inhibir una β -lactamasa se describió ya con el uso de la Meticilina. Posteriormente, algunos otros compuestos han sido estudiados. La penicilina anti-estafilocócica Cloxacilina no es hidrolizada por la β -lactamasas producida por *S. aureus*; sin embargo, por su estrecho espectro de inhibición, su uso es restringido. El nuevo concepto de inhibidores específicos de β -lactamasas comenzó con el reporte del ácido clavulánico en 1976³⁵; fue el primero en ser efectivo *in vitro* e *in vivo*. Tiene una pobre actividad antibacteriana, y su uso es posible al ser combinado con penicilinas y cefalosporinas inductoras de β -lactamasas y/o sensibles a ser inactivadas por ellas. Se ha combinado para su uso con Amoxicilina y Ticarcilina.⁵³

ANTECEDENTES

La relación íntima entre microorganismos y patosis endodóntica fue demostrada en ratas en 1965 por Kakehashi y colaboradores. Después de la exposición de la pulpa dental a la cavidad oral, ocurrió la formación de abscesos, necrosis pulpar y lesiones inflamatorias perirradiculares.⁴¹

En 1990 Lavagnoli; Accorsi y colaboradores consideraron a las bacterias relacionadas con infecciones endodónticas como altamente específicas y las reconocieron como: *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptoestreptococos* y *Veillonella*. El grupo de los *Bacteroides* está compuesto por varias especies con diferentes características genéticas y metabólicas. Ellos son bastones Gramnegativos, no móviles, no formadores de esporas. *Fusobacterium* son bacilos Gramnegativos, no móviles, no formadores de esporas. *Peptoestreptococos* son cocos Grampositivos, no móviles y *Veillonella* son cocos Gramnegativos no móviles.⁴⁶

El número de especies diferentes en un conducto radicular necrótico es usualmente bajo, aproximadamente 4-7 especies, como lo indica Haapasalo, en 1993 aislando especies del género *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Peptoestreptococos*, *Eubacterium* y *Streptococos*²⁶. Este número es confirmado por otros investigadores como Le Goff A, y colaboradores en 1997⁴⁶. Las diferencias en frecuencia de aislamiento de uno a otro estudio pueden estar relacionadas a variables como técnica, medio de transporte, medio de cultivo, tipo de incubación y método de identificación. Las técnicas de cultivo modernas han sido muy útiles para demostrar la asociación de bacterias oportunistas orales con patosis pulpar y periapical.

Möller, Fabricius y Dalhen examinaron la importancia de las bacterias en el desarrollo de lesiones perirradiculares en 1989⁵⁶. Antes de 6-7 meses, el examen clínico, radiográfico e histológico de los dientes con pulpas no infectadas mostró una ausencia de patosis en tejidos perirradiculares mientras los dientes con pulpas necróticas mostraron inflamación periapical.⁵⁶

Hay evidencias que indican que los bioproductos bacterianos emanados del conducto radicular son los mayores irritantes asociados con periodontitis apical. Los bioproductos bacterianos por si solos son capaces de causar patosis perirradicular, según Walton y colaboradores en 1992⁷⁶ y Nair, Sjögren en 1990.⁵⁹ Las bacterias en el canal infectado juegan un papel importante en el progreso de la lesión periapical, debido a sus efectos citotóxicos. En 1998,

Yamasaki, Nakata y colaboradores estudiaron los efectos citotóxicos de bacterias del conducto radicular sobre los fibroblastos periapicales, encontrando que los productos de *Porphyromonas endodontalis*, *P. gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* inhiben el crecimiento de fibroblastos más fuertemente que lo que lo hace *P. Intermedia*.⁷⁹

Horiba y colaboradores en 1991 establecieron relación entre la presencia de endotoxinas y la extensión de la inflamación perirradicular³². Las endotoxinas contenidas en los conductos radiculares de dientes sintomáticos con evidente lesión perirradicular radiográfica y exudado es mucho mayor que en dientes asintomáticos.³³

Se han encontrado poliaminas biológicamente activas en conductos infectados de los canales radiculares⁵⁰. Las células huésped y muchas bacterias, especialmente Gramnegativas, contienen grandes cantidades de poliaminas. Poliaminas como putrescina, cadaverina, espermidina y espermina están involucradas en la regulación del crecimiento celular, regeneración de tejidos y modulación de la inflamación. Se han encontrado grandes cantidades de putrescina y poliaminas en pulpas necróticas de dientes que son sintomáticos especialmente a la percusión y con dolor espontáneo. Los dientes con tractos sinuosos tienen gran cantidad de cadaverina en el espacio pulpar.⁵⁰

En contraste con el debrís (restos) necrótico y el secuestro de microbios en la cavidad pulpar, el tejido perirradicular tiene una excelente circulación colateral, drenaje linfático y una gran disponibilidad de células indiferenciadas. Eventualmente, la patosis perirradicular se desarrolla en respuesta a microorganismos, bioproductos microbianos y productos de desecho microbial. La extensión de la reacción inflamatoria perirradicular dependerá de la severidad de la irritación, duración y respuesta del huésped. Fouad y cols. en 1992 establecieron que las lesiones periapicales empiezan a ser visibles dentro de las 4 primeras semanas en lesiones inducidas²¹. Mediadores de las reacciones inflamatorias no específicas e inmunológicas específicas participan en la formación y perpetuación de las lesiones perirradiculares.

Sobottka, Cachovan y cols. evaluaron la susceptibilidad antimicrobiana de 87 bacterias aisladas a partir de 37 pacientes con abscesos odontogénicos. Las bacterias más frecuentes fueron estreptococos del grupo de *Viridans* y especies de *Prevotella*. En este estudio se detectó que el 100% de las cepas bacterianas fue susceptible a la combinación Amoxicilina-Clavulánico, el 98% fue susceptible a la Moxifloxacina y a la Levofloxacina

(respectivamente), el 76% fue susceptible a la Doxiciclina, el 75% fue susceptible a la Clindamicina, y el 69% fue susceptible a la penicilina.⁷¹

Con Nadal y cols. investigaron en Noruega con pacientes de periodontitis refractaria, la frecuencia de bacterias productoras de β -lactamasas en la placa subgingival. La actividad de las β -lactamasas fue detectada en el 68% de las cepas aisladas. La producción de enzimas presionantes perteneció predominantemente al género *Prevotella*; otros eran estafilococos, bacilos entéricas Gramnegativos y el *Bacillus* spp.²⁸

Jacinto, Gomes y col. investigaron la correlación entre la composición de la flora bacteriana aislada de los canales infectados de la raíz de dientes con periodontitis apical, probando su susceptibilidad antibiótica. Obteniéndose 48 diversas especies microbianas de 19 diversos géneros a partir de 218 muestras. Los canales radiculares de los dientes sintomáticos abrigaron más anaerobios obligados y un número más grande de la especie bacteriana que los dientes asintomáticos. Más del 70% de las muestras bacterianas eran anaerobios facultativos. Las relaciones sugeridas fueron encontradas entre los microorganismos específicos, especialmente anaerobios Gramnegativo, con resultados donde Amoxicilina mas Clavulanato y Cephaclorina eran eficaces. La tarifa más baja en la susceptibilidad fue presentada por *Prevotella intermedia/nigrescens* contra la Penicilina G.³⁸

OBJETIVO GENERAL

- Valoración de la efectividad de antibióticos en bacterias aisladas de los conductos radiculares infectados o necróticos de pacientes que acudieron a la Clínica de Endoperiodontología de la FES Iztacala.

Objetivos Particulares

- Identificación de las cepas bacterianas utilizando los sistemas API-STHAPH, API-20E y API 20 NE.
- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Ampicilina, Penicilina, Amoxicilina, Ceftazidima, Oxitetracilina, Ampicilina más Sulbactam, Cefotaxima y Clindamicina, por el método de dilución en placa.
- Detectar la producción de β -lactamasas en las cepas bacterianas identificadas.

METODOLOGIA

Selección de los Pacientes

Para el desarrollo de este estudio se muestrearon trece pacientes con los conductos radiculares infectados o necróticos (10 mujeres y 3 hombres), en la Clínica de Endoperiontología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FESI), UNAM. El rango de edad de los pacientes fue de 20 a 60 años. Ninguno de los pacientes había recibido terapia con antibióticos en un tiempo de 6 meses antes de la emergencia. Para cada paciente fueron anotadas las siguientes características: Edad, sexo, diente y estado de la pulpa, dolor previo, dolor a la palpación, movilidad del diente, historia previa o actual de terapia con antibióticos o con otros medicamentos, radiografías y presencia de exudado purulento o hemorrágico del canal radicular.

Toma de la Muestra

El presente trabajo fue realizado bajo las más estrictas condiciones asépticas. El diente por valorar fue aislado de las demás piezas dentales mediante un dique de hule. Posteriormente la zona se lavó con una solución de Clorhexidina al 0.12%. A continuación el acceso al canal radicular fue realizado utilizando instrumental estéril, sin usar spray de agua. La pulpa necrótica fue removida cuidadosamente, y enseguida el canal radicular fue agrandado con los mínimos instrumentos y sin el uso de ningún irrigante. Posteriormente fueron introducidas puntas de papel estériles a lo largo del canal durante 60 segundos. En aquellos casos en el que el canal radicular se encontró seco, se adicionaron 0.5 ml de solución salina estéril antes de la toma de muestra. Las muestras fueron depositadas en el medio de transporte Stuart y trasladadas al laboratorio de Análisis Clínicos de la Clínica Universitaria de la Salud Integral (CUSI) ubicada dentro de la FESI, UNAM.

Después las muestras fueron sembradas en el medio líquido de Infusión-Cerebro-Corazón (BHI) e incubadas a 37° C por 24 horas. Al término las muestras fueron sembradas en los medios de Agar Sangre, Sabouraud, Eosina Azul de Metileno (EMB), y S-110; e incubadas a 37° C por 24 horas. Una vez obtenido el crecimiento óptimo las cepas microbiológicas fueron clasificadas como Grampositivas y Gramnegativas de acuerdo a la tinción de Gram.

Finalmente las cepas bacterianas se identificaron mediante los sistemas; API-STAPH (BioMérieux SA) para *Staphylococcus* spp. y *Micrococcus* spp.,

API-20E (BioMérieux SA) para Enterobacterias y API 20 NE (BioMérieux SA) para no enterobacterias.

La especie de *Candida albicans* fue identificada de las demás especies por medio de la prueba del tubo germinativo. Para lo cual cada una de las cepas crecidas se inoculó en 1 ml de suero y se incubó a 37° C por 1 hora. La aparición del tubo germinativo en este tiempo se consideró como una prueba positiva.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria a Antibióticos

Una vez identificadas las cepas bacterianas se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) a Ampicilina, Penicilina, Amoxicilina, Ceftazidima, Oxitetracilina, Ampicilina más Sulbactam, Cefotaxima y Clindamicina por el método de dilución en placa en Agar Mueller-Hinton (MH), utilizando un sembrador múltiple, conforme a lo reportado por Muñoz⁵⁷. Para lo cual cada una de las cepas bacterianas se creció en caldo nutritivo a 37° C por 24 h. Posteriormente cada cultivo se diluyó (1:3) con caldo nutritivo estéril en un pozo del sembrador, para finalmente realizar las replicas en las cajas de agar Mueller Hinton (MH) más diluciones dobles seriadas del antibiótico en el rango de concentración de 3.9 a 4000 µg/ml. (Tabla IV)

Concentraciones de Antibióticos (ml)								
µg/ml	AM	PE	AMOX	CEFZ	OXT	A+S	CEFT	CLI
2000.0	0.4	0.4	2	0.3	2	0.3	0.4	0.3
1000.0	0.2	0.2	1	0.15	1	0.16	0.2	0.15
500.0	0.1	0.1	0.5	0.75	0.5	0.08	0.1	0.07
250.0	0.05	0.05	0.25	0.037	0.25	0.04	0.05	0.037
125.0	0.025	0.025	0.125	0.018	0.125	0.02	0.25	0.018
62.5	0.012	0.012	0.006	0.009	0.062	0.01	0.012	0.009
31.3	0.006	0.006	0.031	0.004	0.031	0.005	0.006	0.004
15.6	0.003	0.003	0.015	0.002	0.015	0.0025	0.003	0.002
7.8	0.0015	0.0015	0.007	0.001	0.007	0.0012	0.0015	0.001
3.9	0.0007	0.0007	0.003	0.0005	0.003	0.0006	0.0007	0.0005

Tabla IV. Concentraciones de Antibióticos en la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria

AM = AMPICILINA

PE = PENICILINA
2 ml.

AMOX = AMOXICILINA

CEFZ = CEFTAZIDIMA

OXT = OXITETRACICLINA

A+S = AMPICILINA MAS SULBACTAM

CEFT = CEFOTAXIMA

CLI = CLINDAMICINA

Binotal: Ampula de 500 mg en 2 ml.

Penprocilina: Solución inyectable de 200,000 Unidades en 2 ml.

Amoxil: Ampula de 250 mg en 5 ml.

Fortum: Ampula de 1 g en 3 ml.

Terramicina: Ampula de 100 mg en 2 ml.

Unasyna: Ampula de 500 mg en 1.6 ml.

Claforan: Ampula de 1 g en 3 ml.

Dalacin C: Ampula de 600 mg en 4 ml.

La CMI es la concentración mínima del antibiótico que inhibe el crecimiento visible de la cepa bacteriana después de incubar durante 24 horas a 37°C.

Detección de β -lactamasas

Para la detección de β -lactamasas se utilizaron discos impregnados con la Cefalosporina Cromogénica Nitrocefin (BBL). Este compuesto cambió de color amarillo a rojo cuando el enlace amida del anillo β -lactámico fue hidrolizado por la β -lactamasa. Para realizar la detección se tomó un disco impregnado con Nitrocefin y se humedeció con una gota de agua estéril y enseguida se colocó con una asa estéril una colonia aislada (crecida en Mueller-Hinton por 24 horas 37° C) de la cepa bacteriana. Se observó la ocurrencia de cambio de color durante un periodo máximo de 1-2 minutos.⁵⁷

RESULTADOS

Pacientes analizados

Para el desarrollo de este trabajo fueron procesadas un total de 13 muestras provenientes de pacientes con los conductos radiculares infectados o necróticos. La mayoría de los pacientes presentó una edad comprendida entre los 51-60 años (50%), seguido por la edad 41-50 (30%) y por ultimo por la edad de 21-40 años (20%) (**Fig. 1**). El 75% del total de los pacientes correspondió al sexo femenino y el 25 % al masculino. (**Fig. 2**)

Microorganismos identificados

A partir de las 13 muestras obtenidas de los pacientes con los conductos radiculares infectados o necróticos, se identificaron un total de 39 microorganismos pertenecientes a 9 géneros; *Staphylococcus* spp. (59%), *Enterobacter* spp. (11%), *Klebsiella* spp. (7.5%), *Escherichia* spp. (5%), *Micrococcus* spp. (5%), *Candida* spp. (5%), *Proteus* spp. (2.5%), *Chryseomonas* spp. (2.5%) y *Acinetobacter* spp. (2.5%) (**Tabla 1.**)

GÉNEROS IDENTIFICADOS	PORCENTAJE
<i>Staphylococcus</i> spp.	59%
<i>Enterobacter</i> spp.	11%
<i>Klebsiella</i> spp.	7.5%
<i>Escherichia</i> spp.	5%
<i>Cándida</i> spp.	5%
<i>Micrococcus</i> spp.	5%
<i>Proteus</i> spp.	2.5%
<i>Chryseomonas</i> spp.	2.5%
<i>Acinetobacter</i> spp.	2.5%

Tabla 1. Porcentaje de los Géneros identificados.

Microorganismos Grampositivos

Dentro del Género *Staphylococcus* spp. (59%, **Tabla 1**) se identificaron bacterias pertenecientes a 7 especies (**Tabla 2**). Se observa que *Staphylococcus aureus* fue la especie que se aisló con mayor frecuencia con un 26%, seguida de *Staphylococcus lentus* (10%), *Staphylococcus xylosus* (10%), y por último *Staphylococcus chromogenes* (5.5%), *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus* spp. se aislaron en un 2.5% cada caso.

ESPECIE	PORCENTAJE
<i>Staphylococcus aureus</i>	26%
<i>Staphylococcus lentus</i>	10%
<i>Staphylococcus xylosus</i>	10%
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	5.5%
<i>Staphylococcus capitis</i>	2.5%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.5%
<i>Staphylococcus spp.</i>	2.5%

Tabla 2. Especies bacterianas Grampositivas aisladas de las infecciones radiculares.

Otros microorganismos identificados dentro de este estudio, fue *Candida spp.* (5%, **Tabla 1**), perteneciente al grupo de los hongos, todas las cepas aisladas de este genero correspondieron a la especie *Candida albicans*.

Microorganismos Gramnegativos

Dentro de las bacterias Gramnegativas se identificó a *Enterobacter agglomerans* en un 11%, seguida de *Klebsiella ozaenae* y *Escherichia coli* con 5%, en cada caso. *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Chryseomonas luteola*, *Acinetobacter baumannii* y *Proteus mirabilis* con un 2.5% para cada caso. (**Tabla 3**)

ESPECIE	PORCENTAJE
<i>Enterobacter agglomerans</i>	11%
<i>Klebsiella ozaenae</i>	5%
<i>Escherichia coli</i>	5%
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	2.5%
<i>Chryseomonas luteola</i>	2.5%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2.5%
<i>Proteus mirabilis</i>	2.5%

Tabla 3. Especies bacterianas Gramnegativas aisladas de las infecciones radiculares

Producción de β -lactamasas

En la **Figura 3** se aprecia que el 52% de las bacterias Grampositivas produjo β -lactamasas, mientras que el 100% de las Gramnegativas produjo esta enzima. (**Fig. 4**)

Concentración Mínima Inhibitoria a Antibióticos en bacterias Grampositivas

En la **Figura 5** se aprecia que la distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria de Ampicilina por parte de las cepas bacterianas fue bimodal, con el 20% de las cepas sensibles (CMI 3.9 $\mu\text{g/ml}$) y el 80% resistentes (CMI 15.6-250 $\mu\text{g/ml}$).

La CMI de Penicilina presentó una distribución de tres picos, con el 24% de las cepas sensibles (CMI 3.9-7.8 $\mu\text{g/ml}$), el 16% moderadamente resistente (CMI 31.2-62.5 $\mu\text{g/ml}$), y el 60% resistente (CMI 250-2000 $\mu\text{g/ml}$) (**Fig. 6**).

En la **Figura 7** se puede observar que el 16% de las cepas fue sensible a la Amoxicilina (CMI 3.9 $\mu\text{g/ml}$), el 44% moderadamente resistente (CMI 15.6-125 $\mu\text{g/ml}$) y el 40% resistente (CMI 250-500 $\mu\text{g/ml}$).

La CMI de Ceftazidima se distribuyó en dos picos, con el 16% de las cepas sensibles (3.9 $\mu\text{g/ml}$) y 84% resistentes (CMI 62.5-250 $\mu\text{g/ml}$) (**Fig. 8**).

En la **Figura 9** con Oxitetraciclina se puede apreciar que el 16% de las cepas fue sensible (CMI 3.9-7.8 $\mu\text{g/ml}$) y el 84% resistente (CMI 15.6-125 $\mu\text{g/ml}$).

En la **Figura 10** se observa que el 100% de las cepas fue sensible a la Ampicilina más Sulbactam (CMI 3.9 $\mu\text{g/ml}$).

La distribución de la CMI de Cefotaxima por parte de las cepas fue unimodal, con el 100% de cepas sensibles (CMI 3.9 $\mu\text{g/ml}$) (**Fig. 11**).

El 100% de las cepas fue resistente a la Clindamicina (CMI 4000 $\mu\text{g/ml}$) (**Fig. 12**).

Concentración Mínima Inhibitoria a Antibióticos en bacterias Gramnegativas

En la **Figura 13** se aprecia que la distribución de la CMI de Ampicilina por parte de las cepas Gramnegativas fue bimodal, con el 83% de las cepas moderadamente resistente (CMI 31.2-62.5 $\mu\text{g/ml}$) y el 17% resistentes (CMI 250 $\mu\text{g/ml}$).

La distribución de la CMI de Penicilina por parte de las cepas bacterianas presentó un comportamiento unimodal, con el 100% de las cepas resistentes (CMI 2000-4000 $\mu\text{g/ml}$) (**Fig. 14**).

En la **Figura 15** se aprecia que el 75% de las cepas fue moderadamente resistente a la Amoxicilina (CMI 250-1000 $\mu\text{g/ml}$) y el 25% resistente (CMI 2000-4000 $\mu\text{g/ml}$).

La distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria de Ceftazidima por parte de las cepas fue trimodal, sensible en el intervalo de 3.9 $\mu\text{g/ml}$ (42%), moderadamente resistente en el rango de 62.5-250 $\mu\text{g/ml}$ (50%) y resistente 1000 $\mu\text{g/ml}$ (8%) (**Fig.16**).

Para Oxitetraciclina las cepas se distribuyeron en tres picos (**Fig. 17**), sensible en el rango de 3.9 $\mu\text{g/ml}$ (67%), moderadamente resistente en el intervalo de 31.2 $\mu\text{g/ml}$ (25%) y resistente en 500 $\mu\text{g/ml}$ (8%).

El 100% de las cepas fue sensible a la Ampicilina más Sulbactam y a la Cefotaxima (CMI 3.9 $\mu\text{g/ml}$) (**Fig. 18** y **Fig. 19**, respectivamente)

El 100% de las cepas Gramnegativas fue resistente a la Clindamicina (CMI 4000 $\mu\text{g/ml}$) (**Fig. 20**).

FIGURA 1
DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES ANALIZADOS POR EDAD

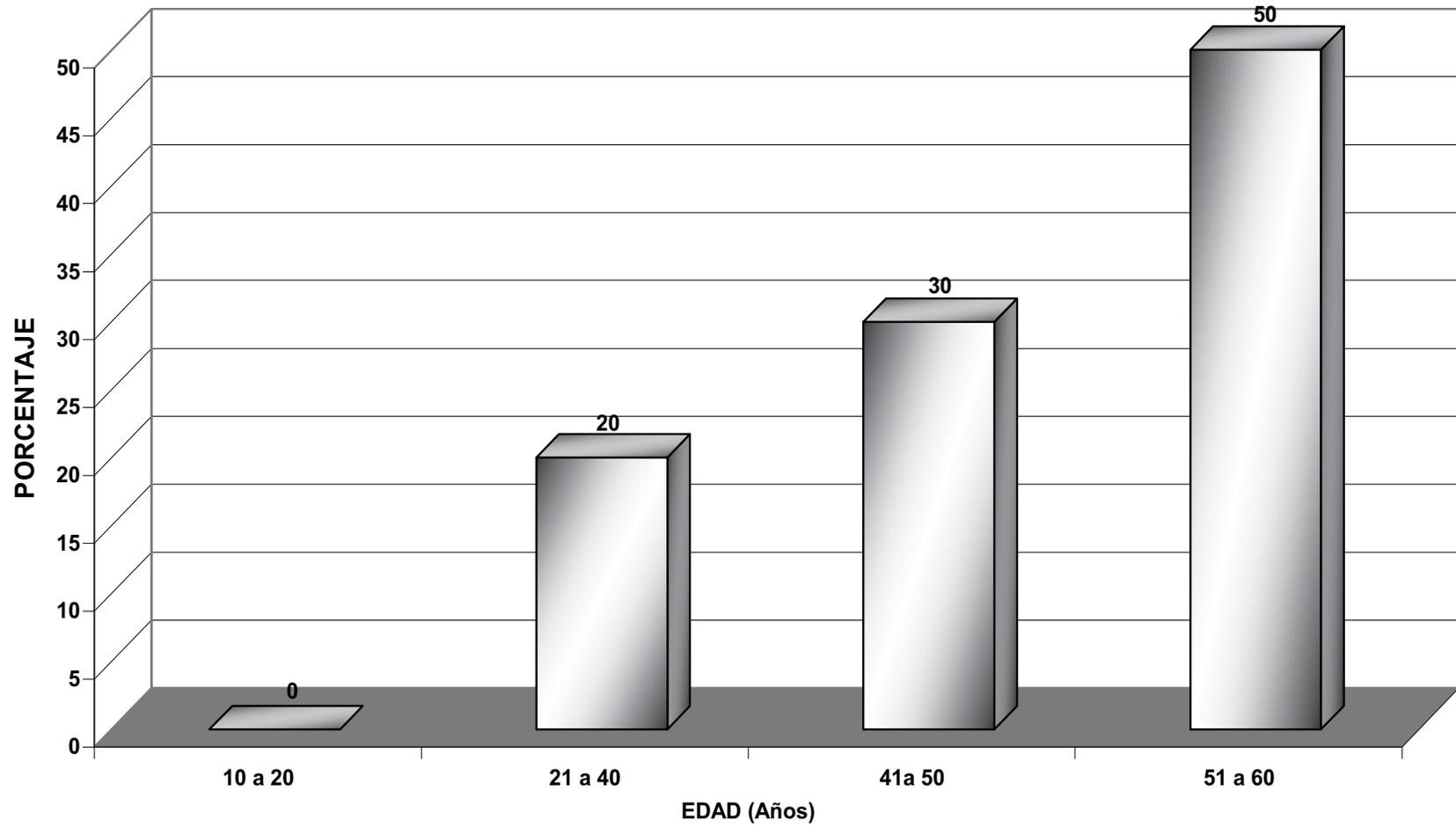


FIGURA 2
DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES POR SEXO

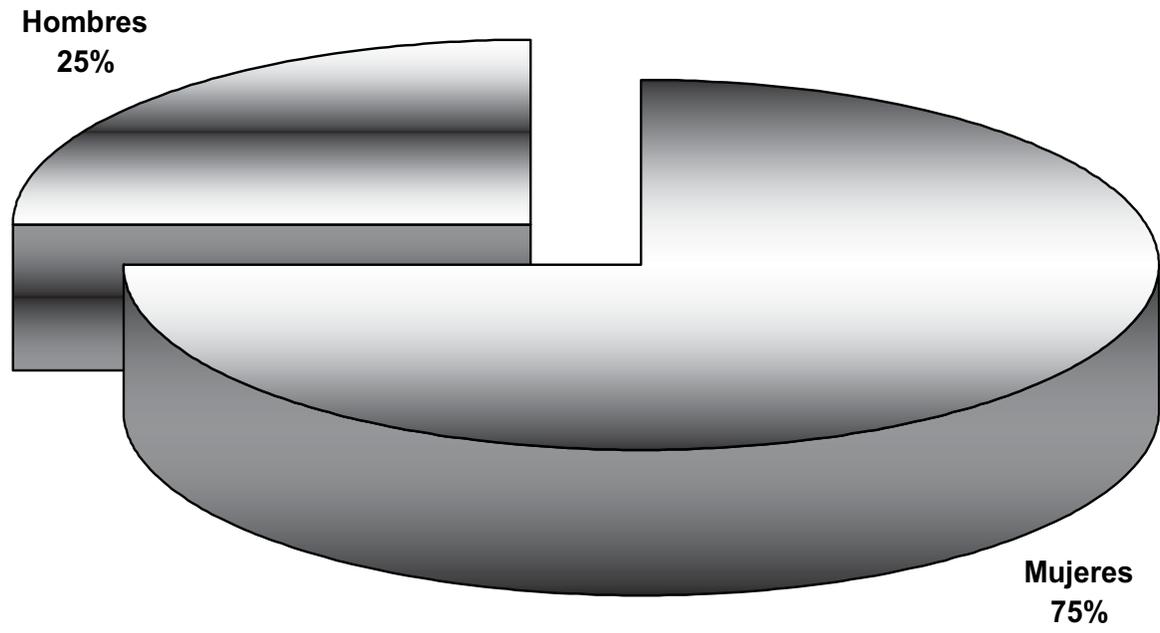


FIGURA 3
PRODUCCIÓN DE β -lactamasas EN CEPAS GRAMPOSITIVAS

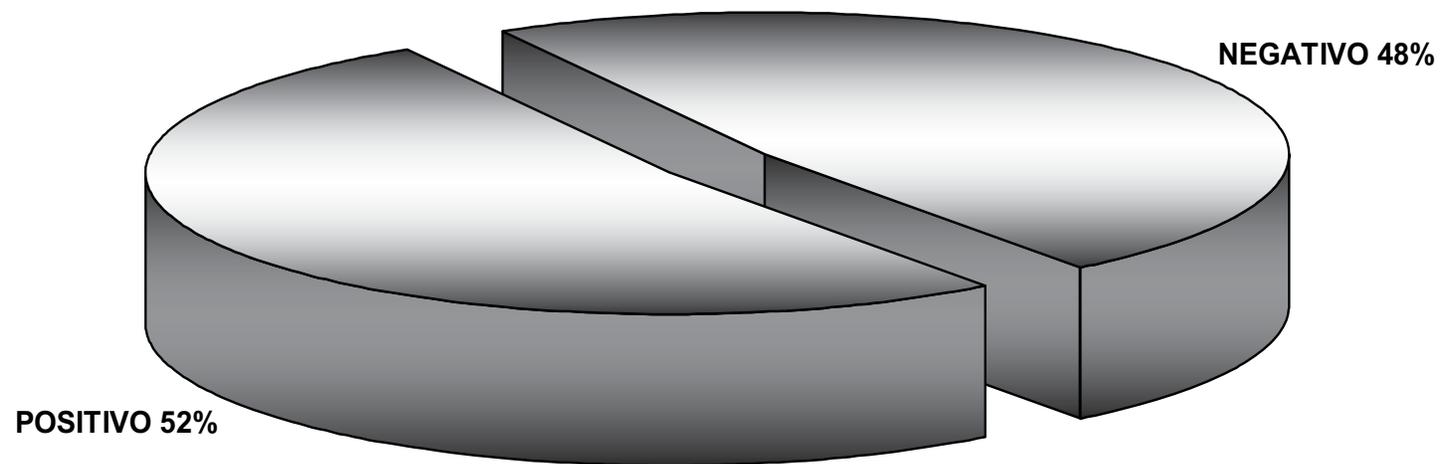
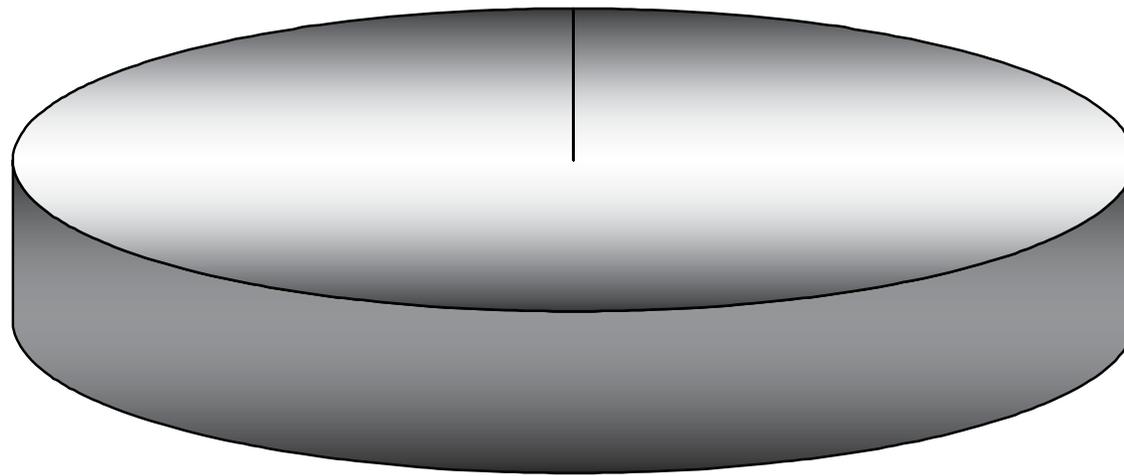


FIGURA 4
PRODUCCIÓN DE β -lactamasas EN CEPAS GRAMNEGATIVAS



POSITIVO 100%

FIGURA 5
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE AMPICILINA EN CEPAS GRAMPOSITIVAS

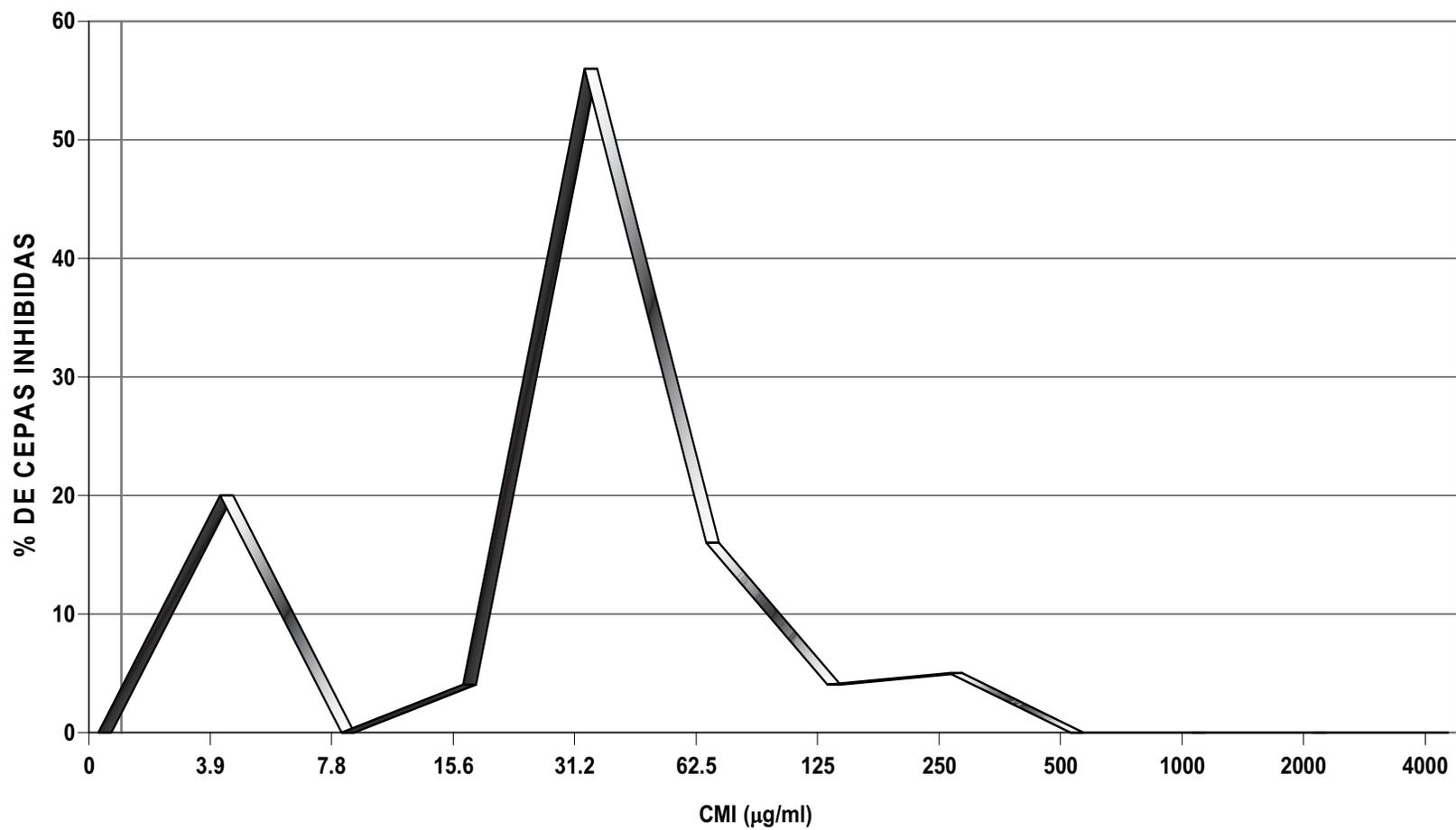


FIGURA 6
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE PENICILINA EN CEPAS GRAMPOSITIVAS

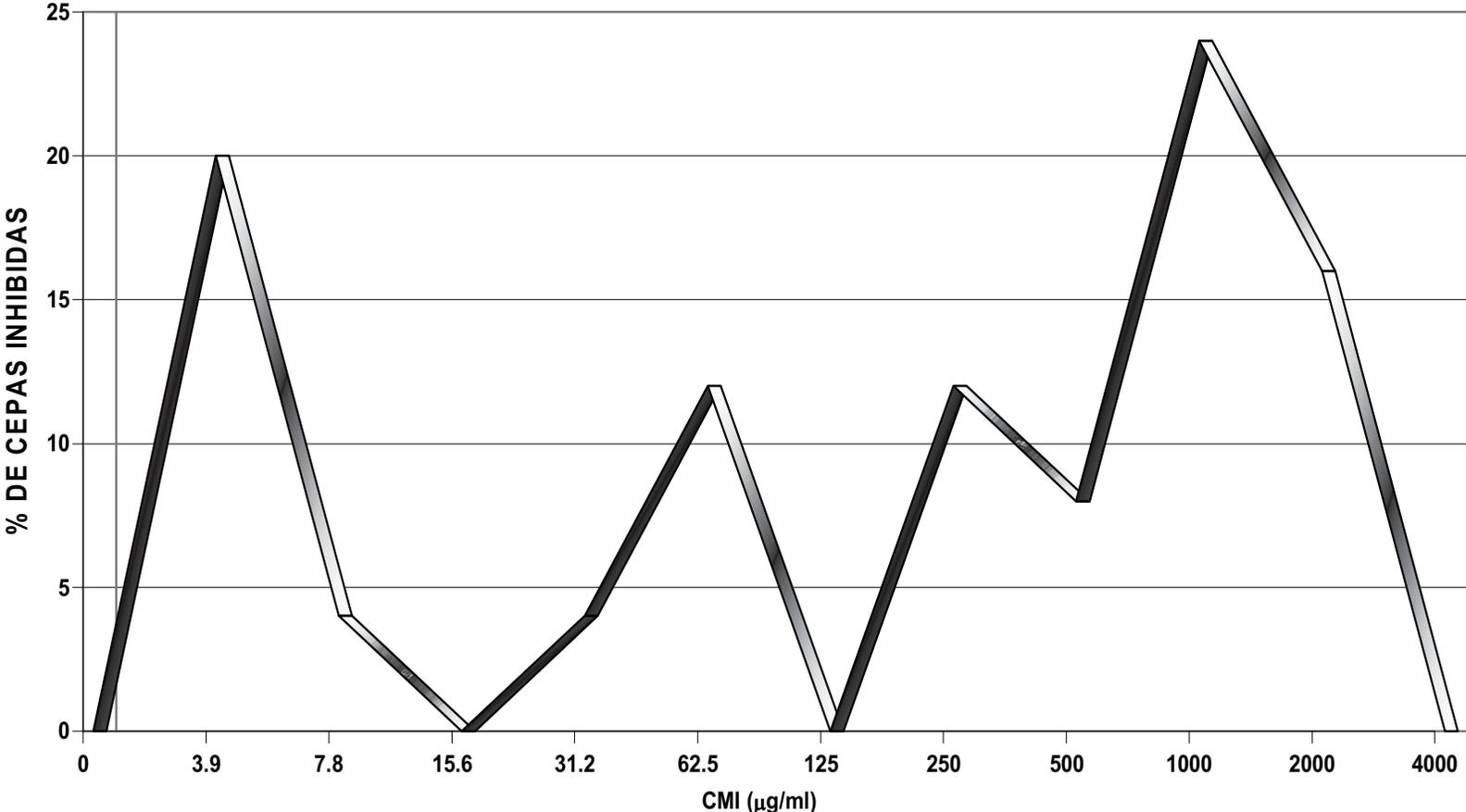


FIGURA 7
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE AMOXICILINA EN CEPAS GRAMPOSITIVAS

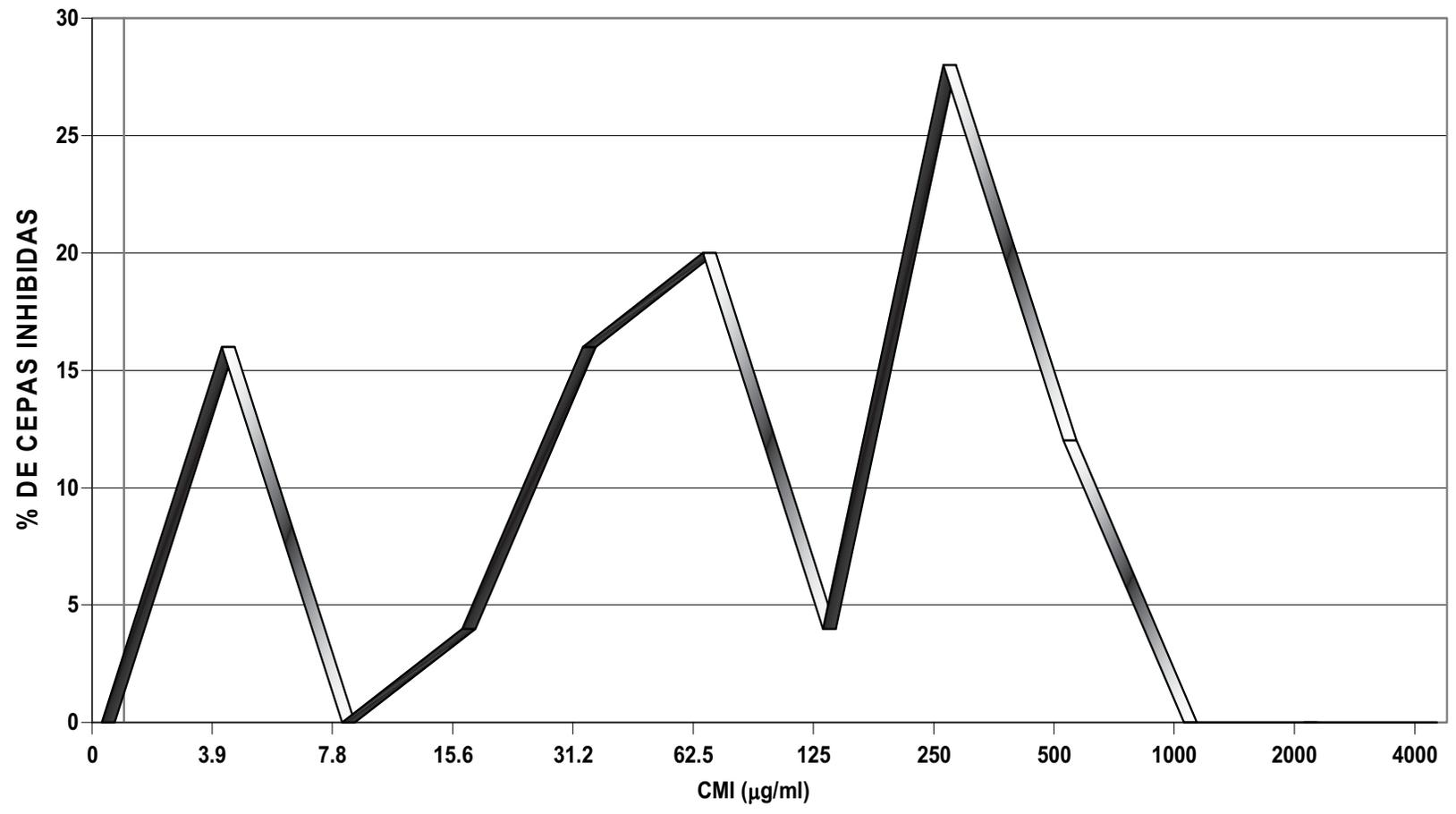


FIGURA 8
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE CEFTAZIDIMA EN CEPAS GRAMPOSITIVAS

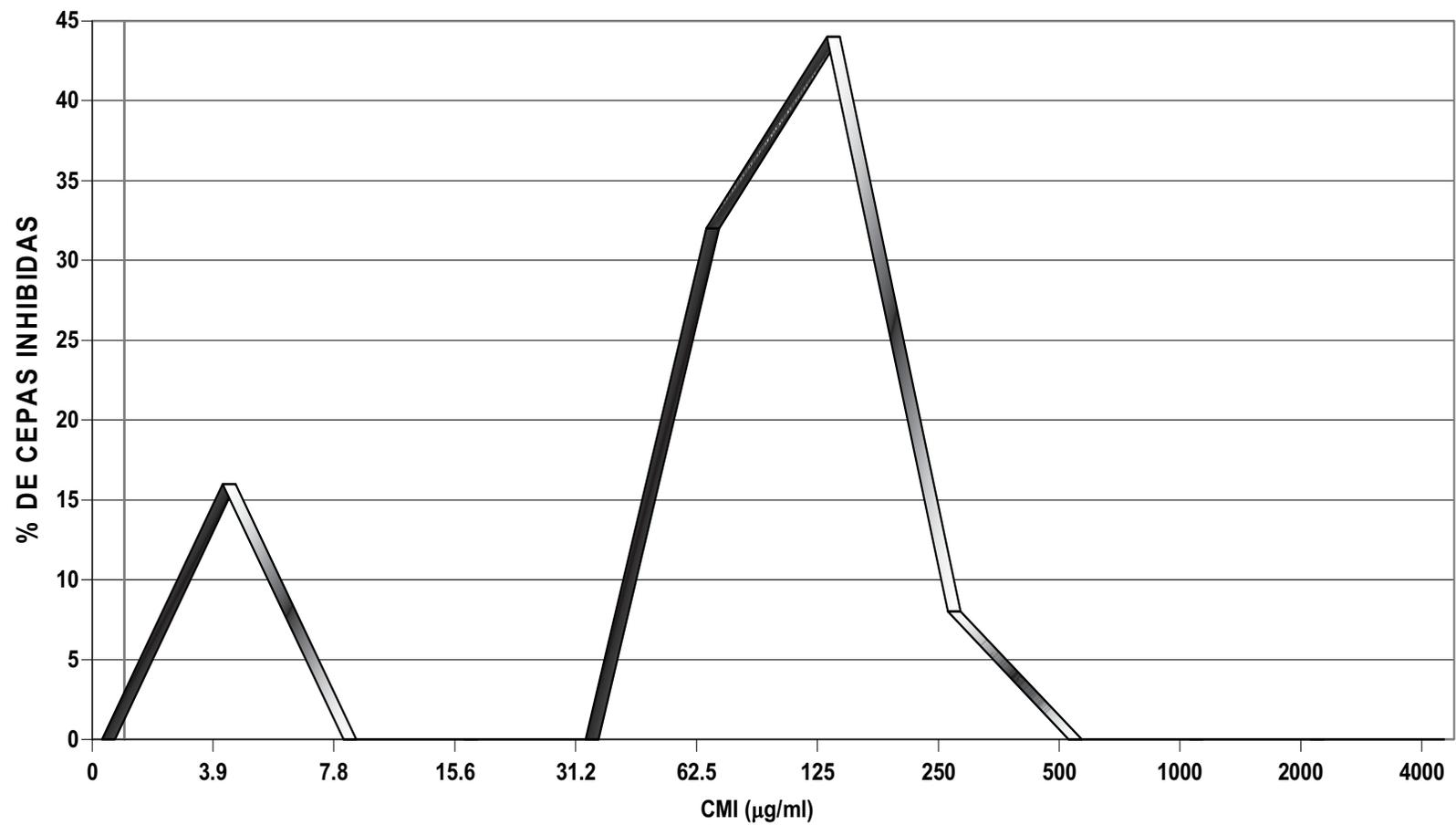


FIGURA 9
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE OXITETRACICLINA EN CEPAS GRAMPOSITIVAS

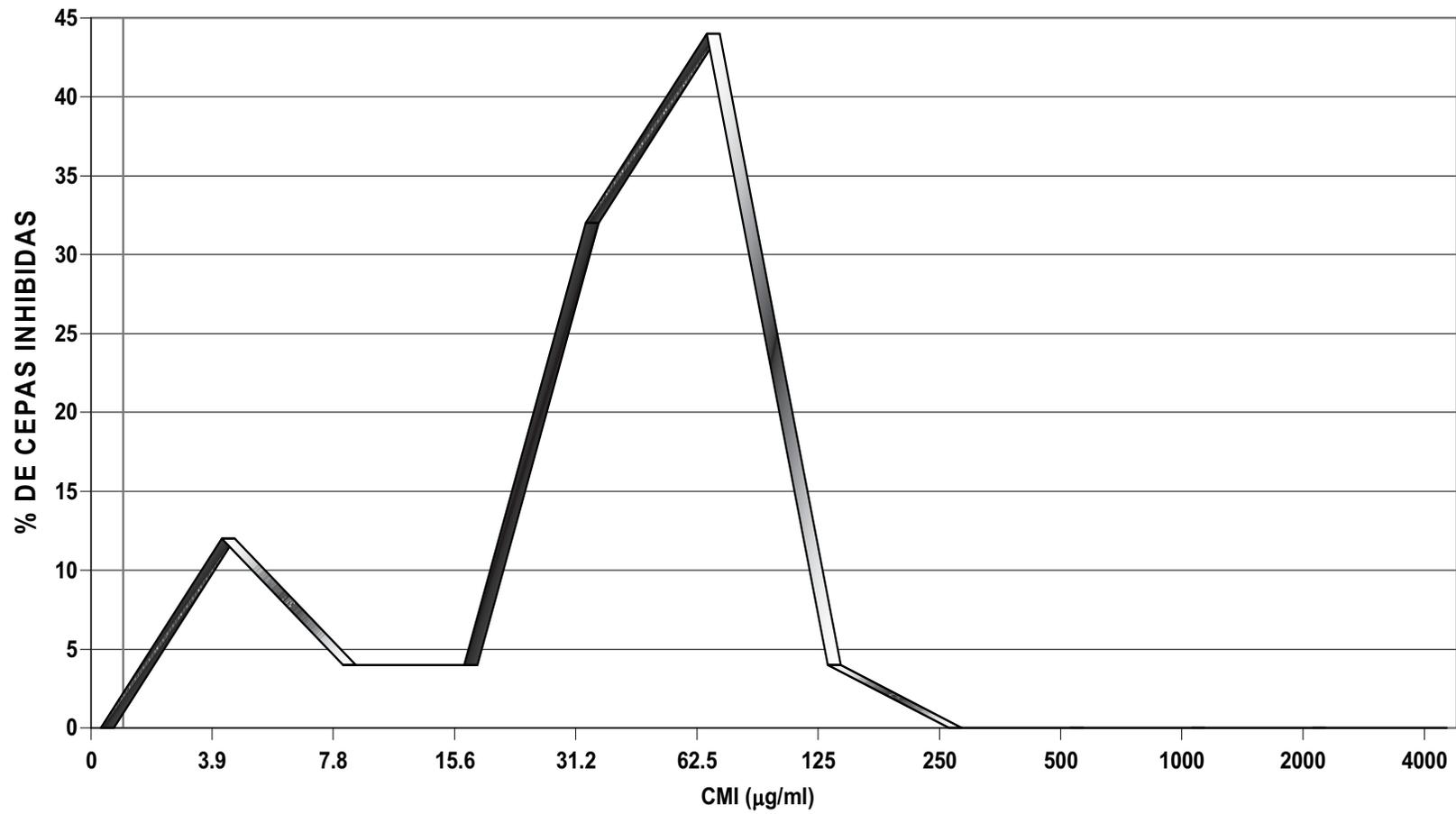


FIGURA 10
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE AMPICILINA MAS SULBACTAM EN CEPAS GRAMPOSITIVAS

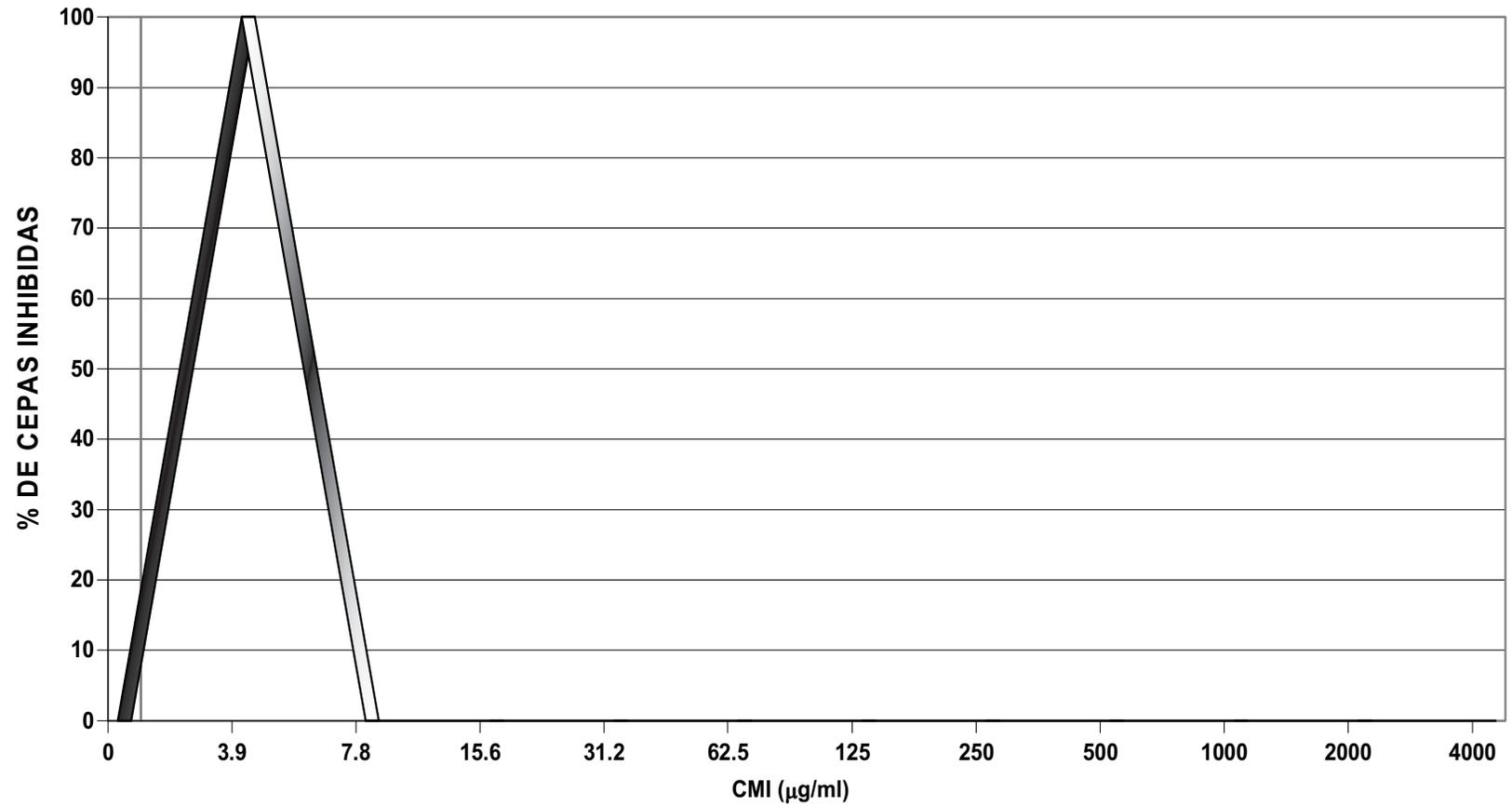


FIGURA 11
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE CEFOTAXIMA EN CEPAS GRAMPOSITIVAS

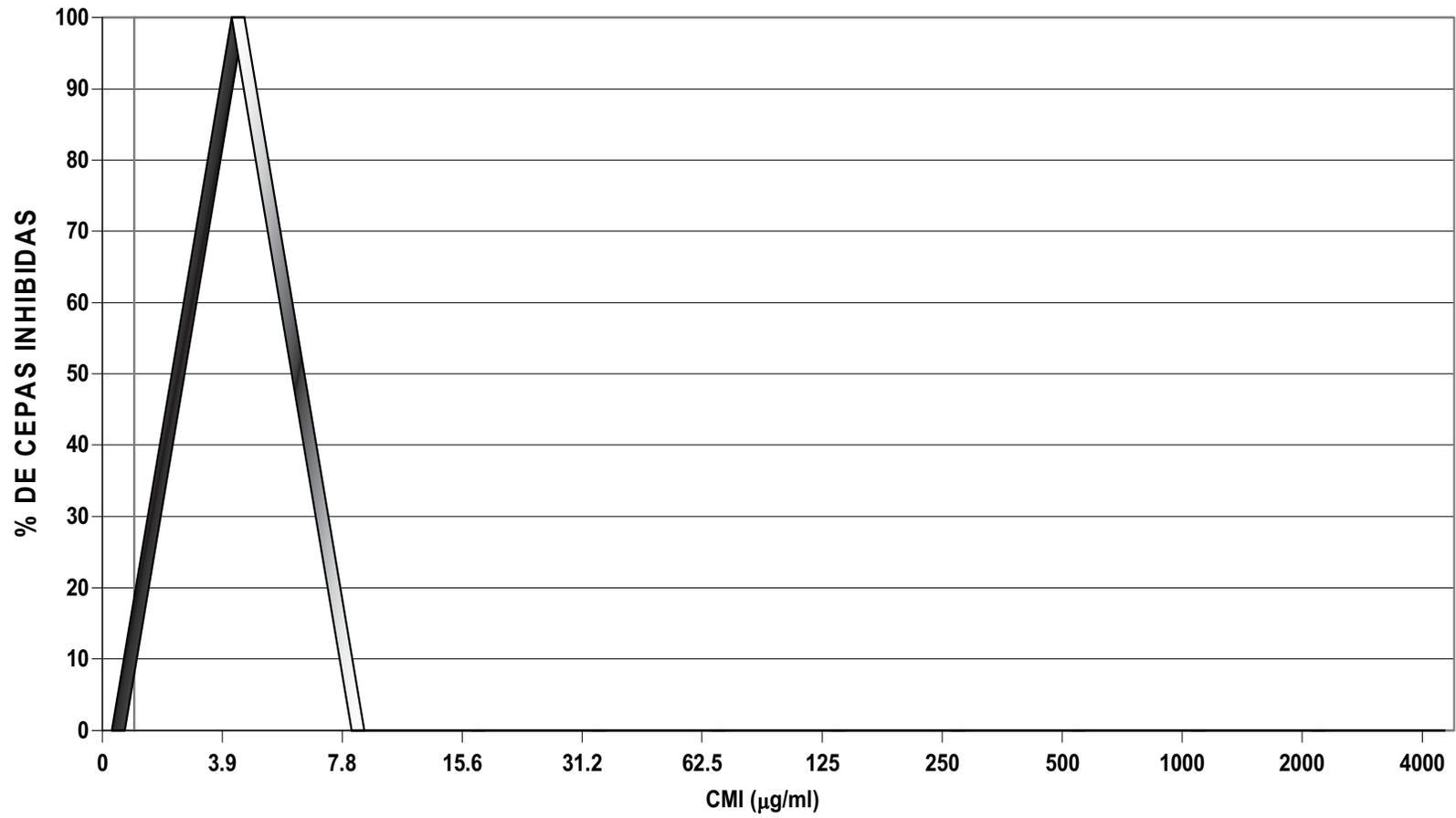


FIGURA 12
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE CLINDAMICINA EN CEPAS GRAMPOSITIVAS

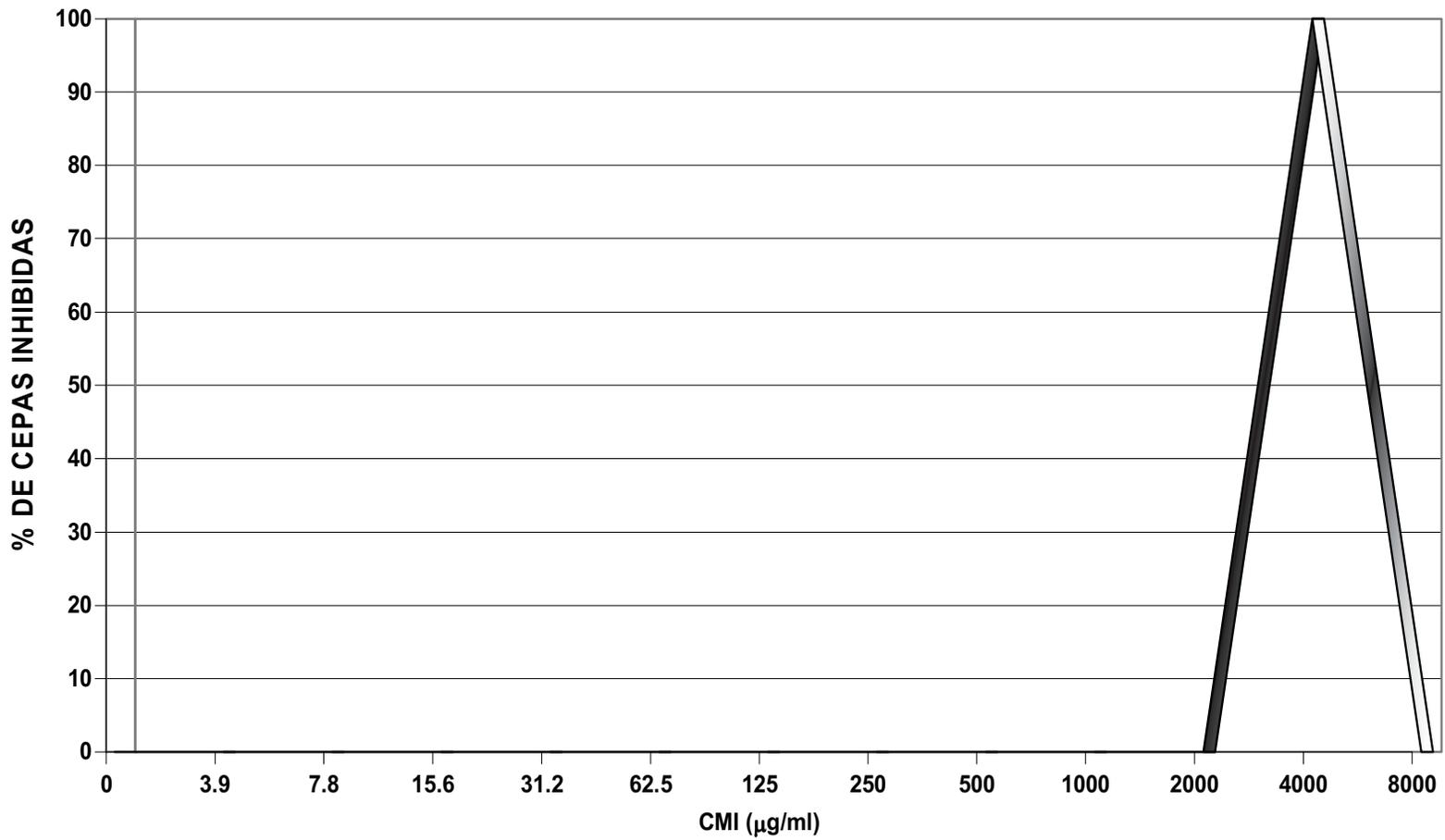


FIGURA 13
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE AMPICILINA EN CEPAS GRAMNEGATIVAS

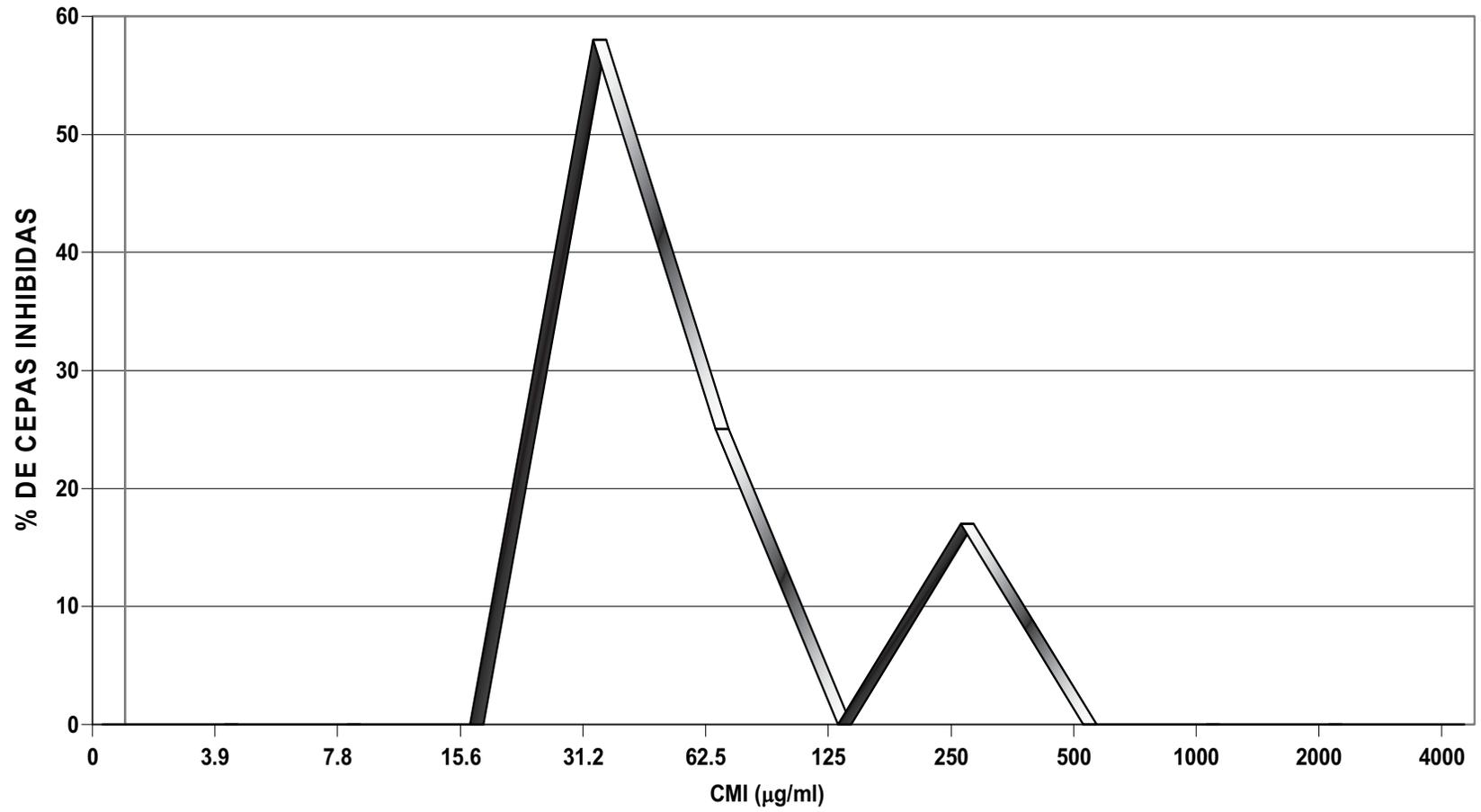


FIGURA 14
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE PENICILINA EN CEPAS GRAMNEGATIVAS

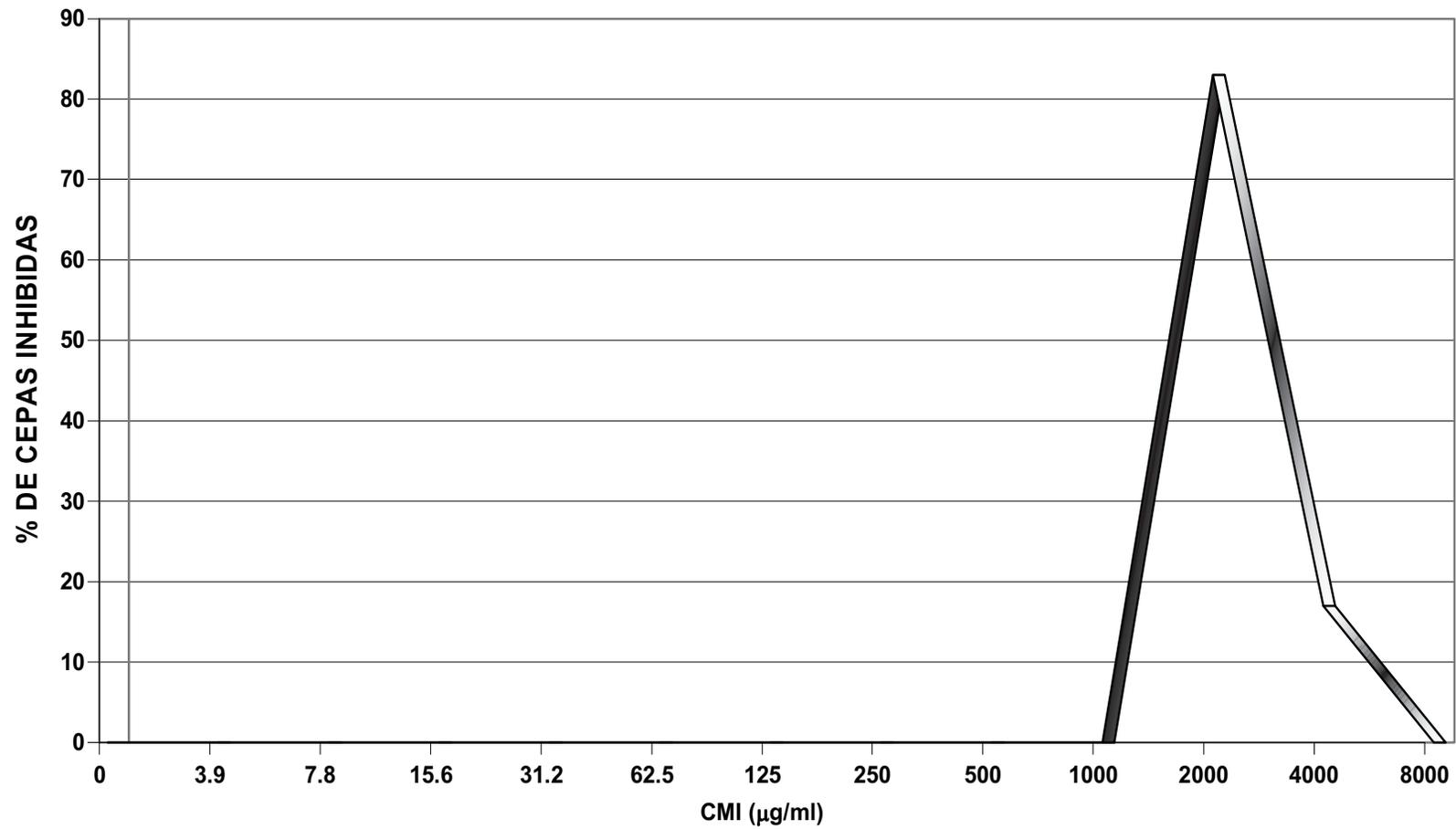


FIGURA 15
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE AMOXICILINA EN CEPAS GRAMNEGATIVAS

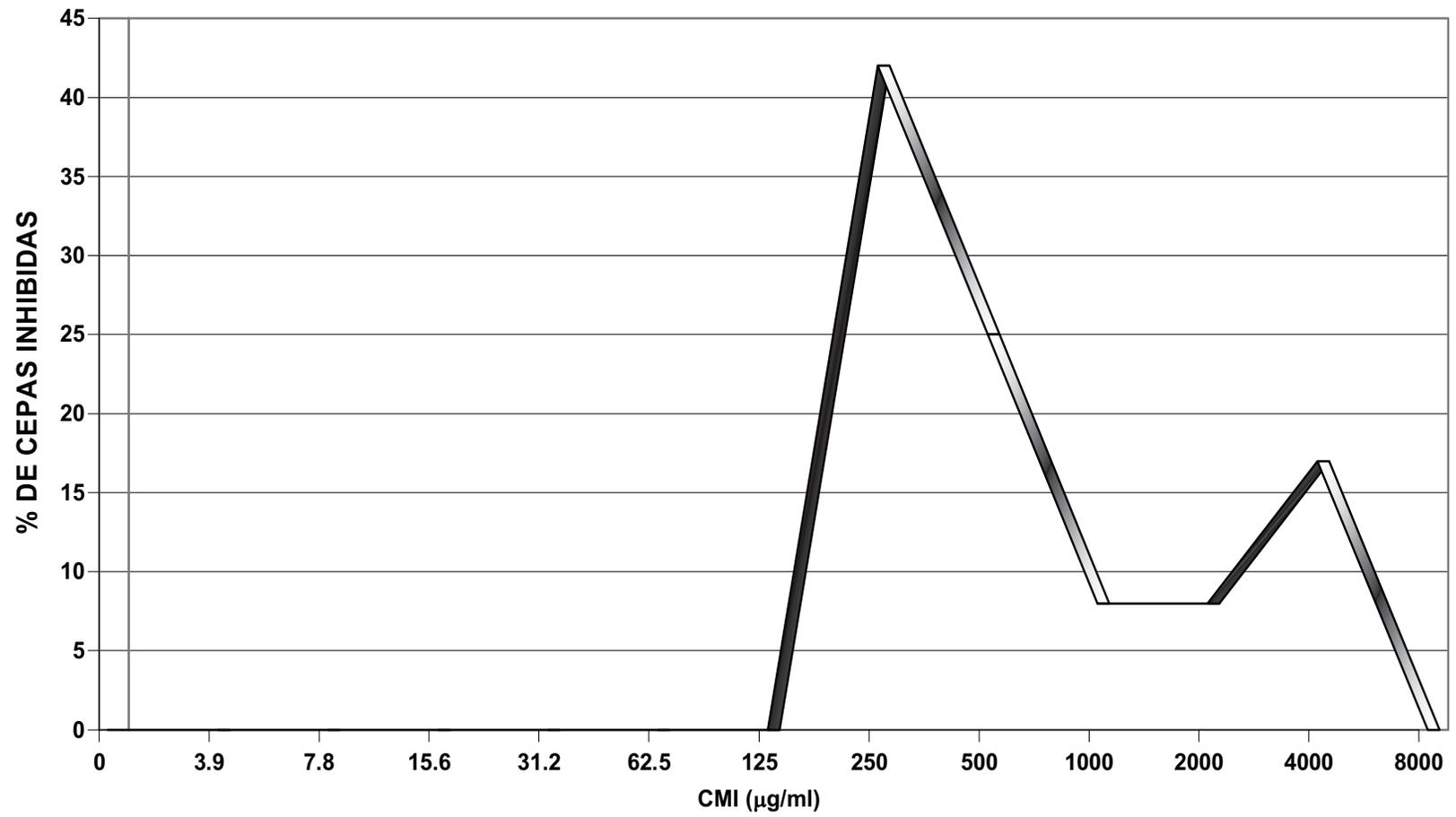


FIGURA 16
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE CEFTAZIDIMA EN CEPAS GRAMNEGATIVAS

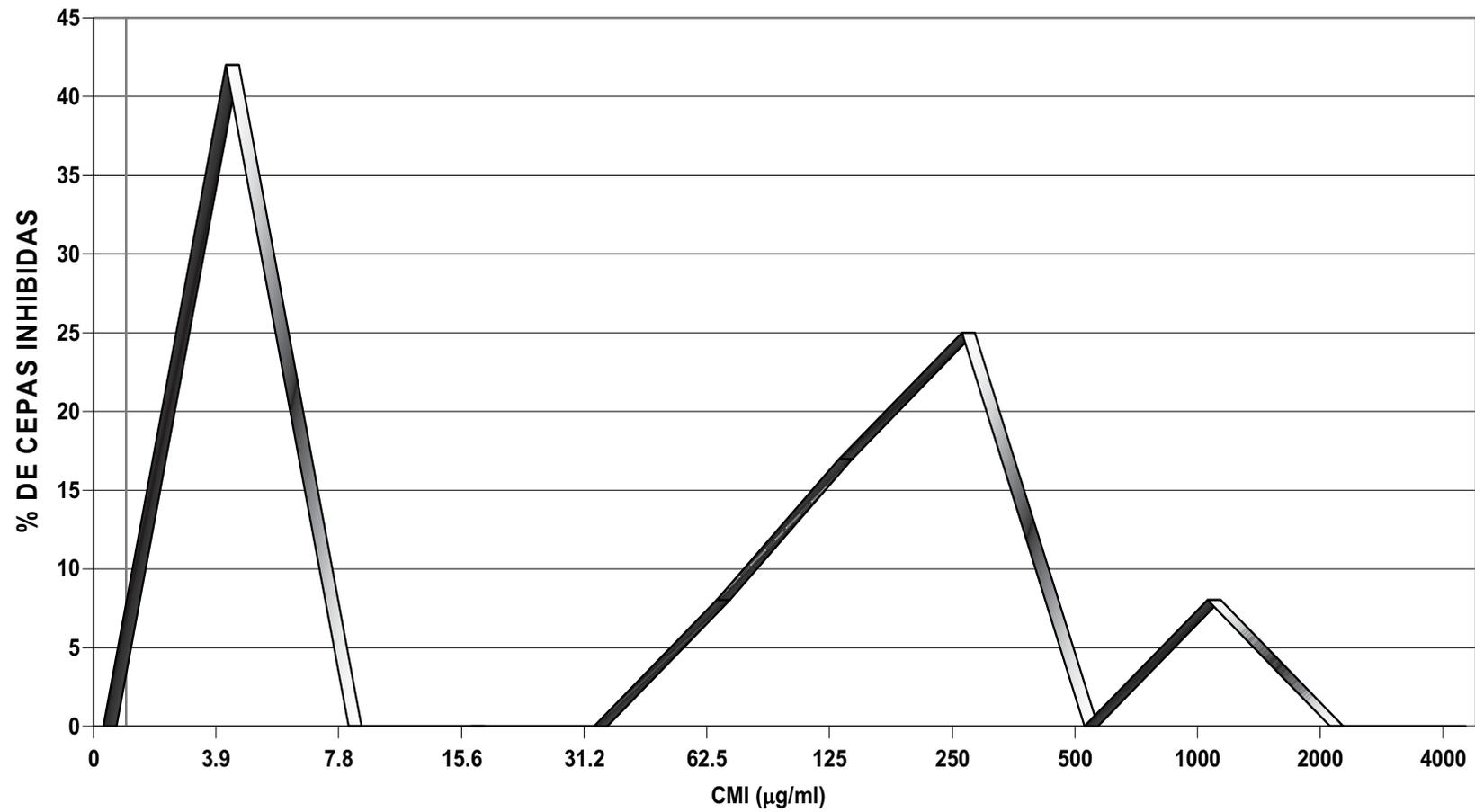


FIGURA 17
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE OXITETRACICLINA EN CEPAS GRAMNEGATIVAS

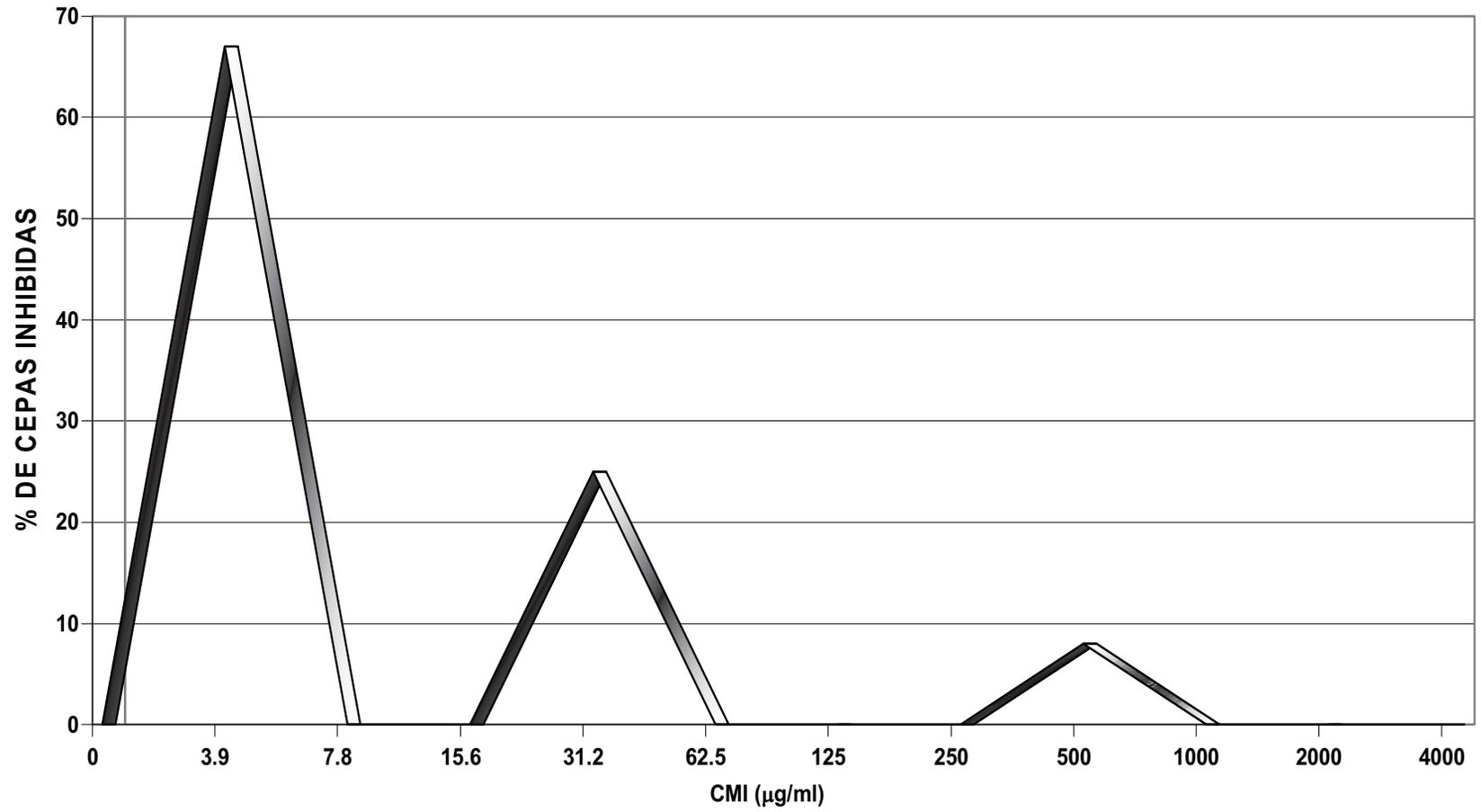


FIGURA 18
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE SULBACTAN MAS AMPICILINA EN CEPAS GRAMNEGATIVAS

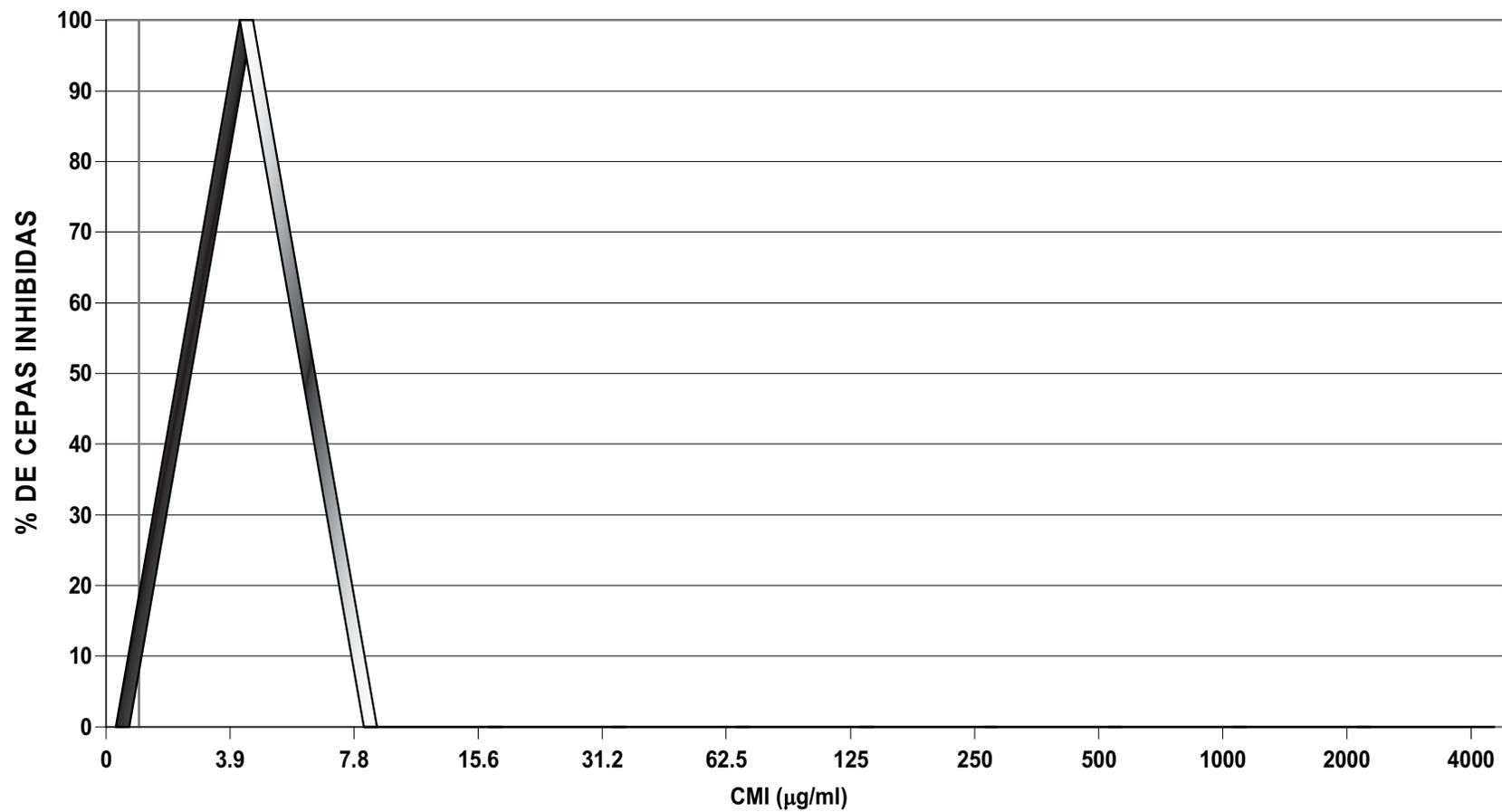


FIGURA 19
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE CEFOTAXIMA EN CEPAS GRAMNEGATIVAS

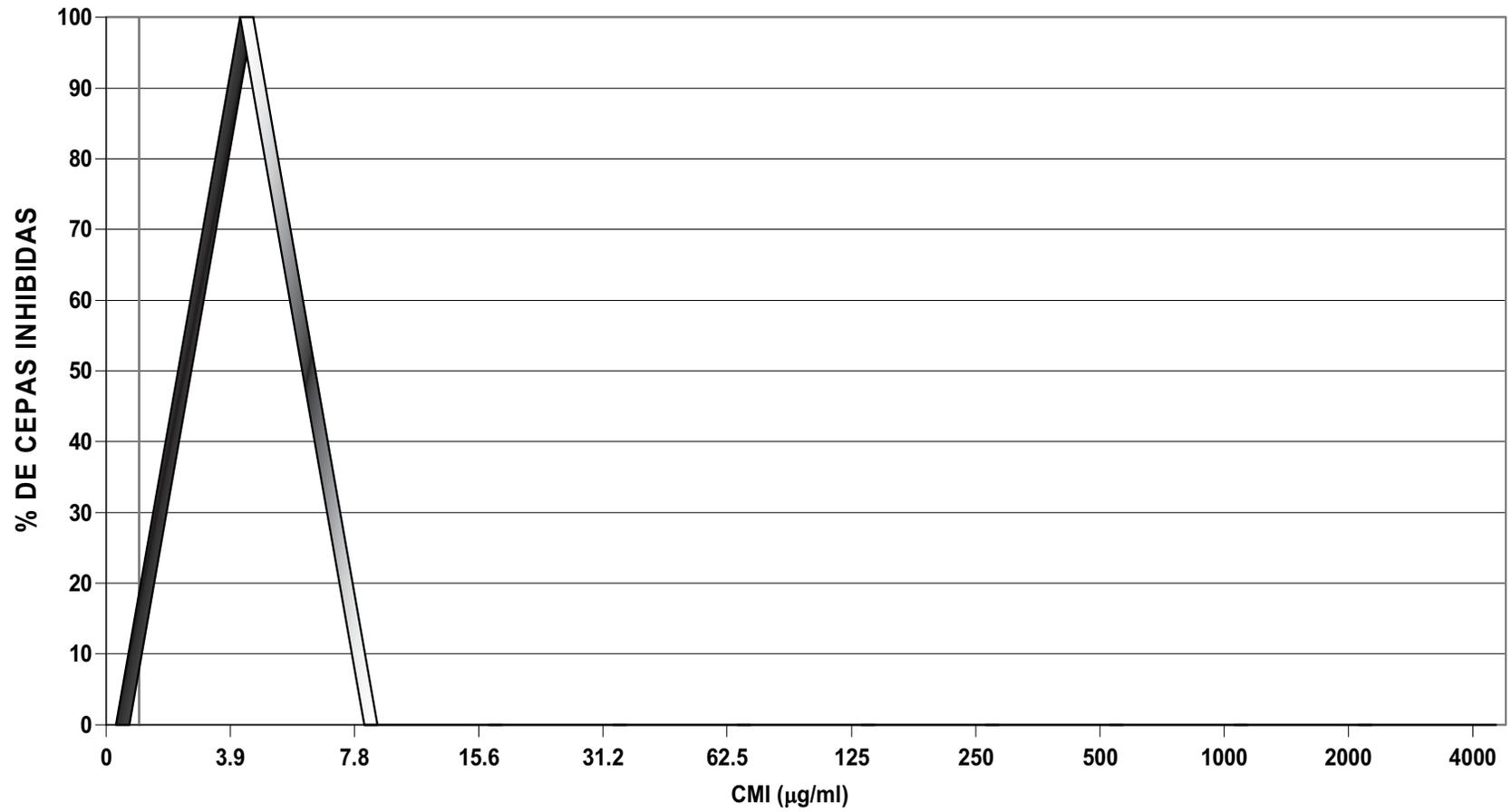
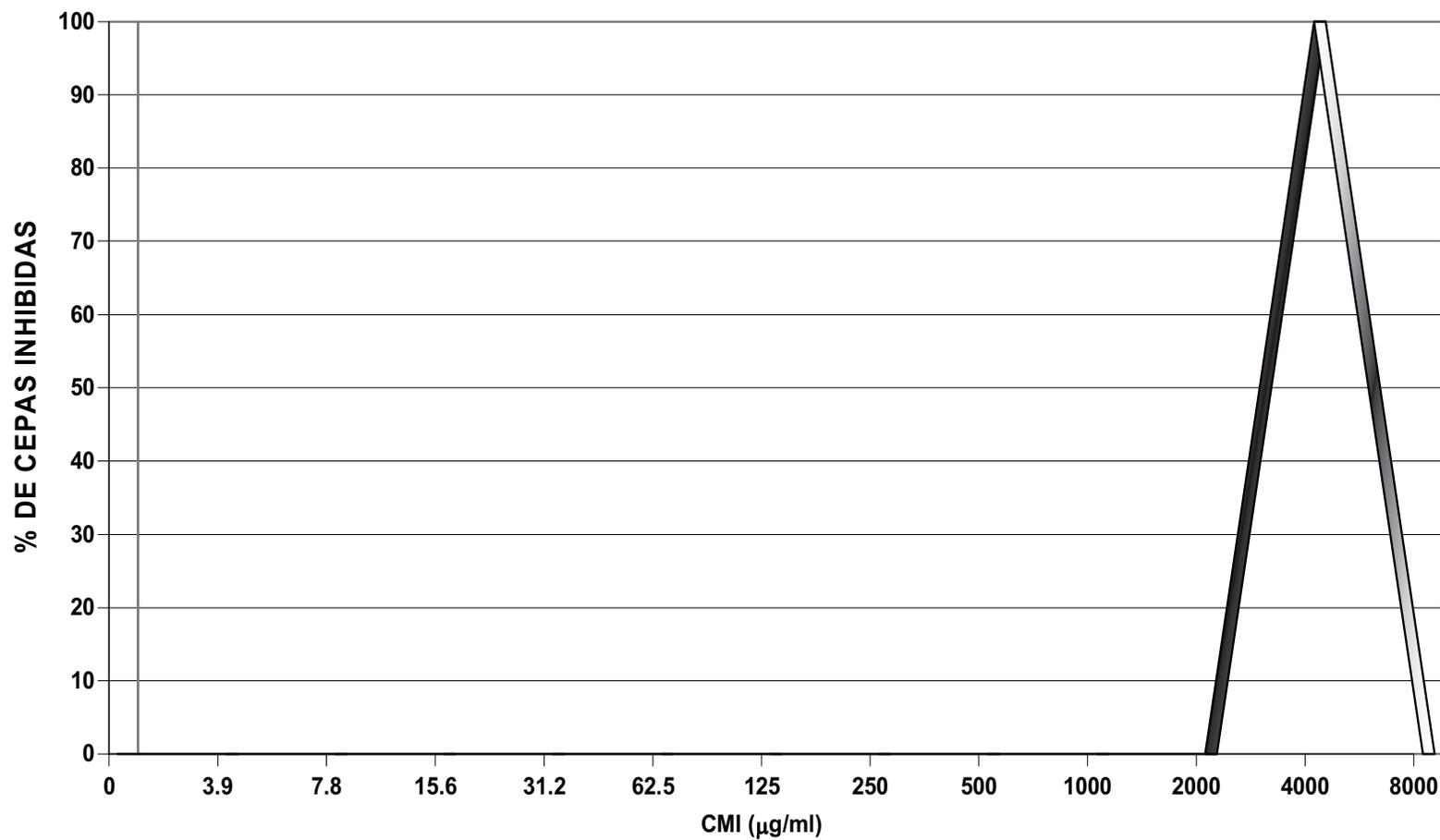


FIGURA 20
DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA
DE CLINDAMICINA EN CEPAS GRAMNEGATIVAS



DISCUSIÓN

Pacientes Analizados

Para el desarrollo de este trabajo se seleccionaron a 13 pacientes con infecciones en los conductos radiculares que acudieron a su tratamiento en la clínica de Endoperiodontología de la FES Iztacala. Se ha descrito que en el desarrollo de la caries dental y posteriormente, en el surgimiento de infecciones, se necesita de una ingesta rica de carbohidratos, así, como de productos azucarados, que en conjunto con una limpieza dental ineficiente provocan el desarrollo de la caries³⁶. También se ha descrito que la caries dental es un proceso infeccioso en el que varios microorganismos de la placa dentobacteriana, como *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, producen ácidos que atacan principalmente el componente inorgánico del esmalte dental, provocando su desmineralización; dando paso a que los microorganismos se dirijan hacia la cámara pulpar cuando es expuesta a concentraciones mayores de productos microbianos, ya sea por tubulos dentinarios expuestos por la caries, las microfracturas coronarias, y radiculares o las bolsas periodontales profundas, quienes son las vías mas probables para una infección endodóntica^{36,58}. Este fenómeno, de no ser revertido a través de la remineralización se produce una pérdida de sustancia dentaria, que trae consigo la formación de cavidades en los dientes y más adelante la pérdida de la pieza dental.

Identificación microbiana de los conductos radiculares infectados de los pacientes

Bacterias Grampositivas

En este estudio a través del sistema de identificación API-STHAP se aisló a el género *Staphylococcus* spp. en el 59% de los pacientes con infecciones en los conductos radiculares infectados (**Tabla 1**). Nuestros datos son semejantes a los reportados en otros estudios, por ejemplo, en un estudio realizado en Brasil con 30 pacientes con infecciones periodontales, se encontró que el agente causal en el 10% de los casos correspondió a *S. aureus*⁶⁵; En otro estudio realizado por Dahlem¹⁹ en la Universidad de Gotergorg, Suiza, en 973 muestras subgingivales tomadas de 535 pacientes sujetos a diferentes tratamientos periodontales, se encontró que *S. aureus* fue el responsable de las infecciones en más del 10% de las muestras tomadas. También Rams⁶⁴ reportó la presencia de *Staphylococcus* spp. en 11 pacientes

en un estudio realizado a 21 adultos con periodontitis, en la Universidad de Pensylvania.

Dentro del género *Staphylococcus* spp., la especie de *Staphylococcus aureus* se detectó en el 26% de los pacientes infectados analizados (**Tabla 2**). Se ha descrito que *S. aureus* ha sido aislado de pacientes con abscesos dentales, por ejemplo, en un estudio realizado en Hamburgo, Alemania con 37 personas que se estudiaron, se detectó a *S. aureus* en el 2.7% de los pacientes infectados⁷¹. La presencia de *S. aureus* puede deberse probablemente a que esta bacteria es un patógeno de la nasofaringe y que posiblemente llega por medio de la saliva a los conductos radiculares expuestos por las infecciones de la caries. En estudios realizados por Listgarten y col⁴⁸ en la universidad de Pensylvania a partir de 993 muestras microbiales subgingivales se identifico a *S. aureus* en un 1.5%.

En este trabajo *Staphylococcus xylosus* fue aislado en el 10% de los pacientes infectados (**Tabla 2**). En un estudio realizado en el Hospital General de México, a la llegada de 4 pacientes con bacteremia y síndrome de respuesta inflamatoria sistémica a la unidad de Terapia Intensiva¹⁴, se detectó que el agente causal fue por *Staphylococcus xylosus*. En otro estudio realizado en la Universidad de Oslo Noruega²⁸, en pacientes con casos de periodontitis se identifico a *Staphylococcus xylosus* en un 5%.

En este trabajo *Staphylococcus epidermidis* se aisló en el 2.5% de los pacientes (**Tabla 2**), corroborando lo propuesto por Handal en 1990, en donde en un estudio realizado a 25 pacientes con casos de periodontitis refractaria marginal, se identifico a *S. epidermidis* por medio del sistema API-STAPH²⁸.

En este estudio se aisló a *Staphylococcus lentus* en un 10%, *Staphylococcus chromogenes* en un 5.5%, *Staphylococcus capitis* en un 2.5% y *Staphylococcus* spp. en un 2.5% (**Tabla 2**), Estos resultados reflejan que las infecciones de los canales radiculares pueden ser ocasionadas por diferentes especies del género *Staphylococcus*.

Bacterias Gramnegativas

Por medio del sistema API20-E se identificó al Género *Enterobacter* en el 11% del total de pacientes muestreados (**Tabla 1**). En un estudio realizado en Oslo Noruega uno de 36 muestras obtenidas por periodontitis apical se

obtuvo al género *Enterobacter*⁷². En otro estudio realizado por Rams⁶⁴, en 21 pacientes con periodontitis, se aisló a *Enterobacter aerogenes* en dos casos.

En este trabajo el Género *Klebsiella* se identificó en el 7.5% del total de las infecciones radicales (*Klebsiella ozanae* 5% y *Klebsiella rhinoscleromatis* 2.5%), (**Tabla 3**). El Género *Klebsiella* es común aislarlo de las infecciones periodontales, por ejemplo, en un estudio realizado en Alemania por Sobottka y col.⁷¹ a partir de 37 pacientes con abscesos periodontales, se aisló a *Klebsiella pneumoniae*.

Por otra parte reportamos que *Micrococcus* spp. se aisló en el 5% de los pacientes infectados, *Proteus mirabilis* en el 2.5%, *Chryseromona luteola* en el 2.5%, *Acinetobacter baumannii* en el 2.5% y *Escherichia coli* en el 5% (**Tabla 3**). Algunas de estas especies ya han sido aisladas de procesos infecciosos periodontales, por ejemplo; en un estudio realizado en la Universidad de Oslo, Noruega en pacientes con periodontitis, se aisló a *E. coli* y al género *Acinetobacter* spp.²⁸ En otro estudio realizado a partir de 21 casos de periodontitis en la Universidad de Pensylvania⁴⁸, se aisló a *E. coli* en el 4.7% de los pacientes.

Resistencia a Antibióticos, Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Grampositivos

Ampicilina

En nuestro estudio reportamos que la Concentración Mínima Inhibitoria de Ampicilina fue bimodal (**Fig. 5**), sensible en el intervalo de 3.9 µg/ml (20%) y resistente en el rango 15.6-250 µg/ml (80%). Nuestros datos contrastan con los encontrados por Handal²⁸, en un estudio realizado en Oslo, Noruega, a partir de un grupo de cepas bacterianas Grampositivas aisladas de pacientes con periodontitis. En este estudio el 100% de las cepas fue sensible a la Ampicilina en el rango de 0.19-0.125 µg/ml.

Penicilina

En nuestro trabajo reportamos que la distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria de Penicilina para las cepas Grampositivas fue trimodal (**Fig. 6**), sensible en el rango de 3.9-7.8 µg/ml (24%), moderadamente resistente en el rango de 31.2-62.5 µg/ml (16%) y resistente entre 250-2000 µg/ml (60%). La elevada resistencia de las cepas Grampositivas a este antibiótico, no nos sorprende, debido a que este ha sido por muchos años el antibiótico de elección para combatir las infecciones bacterianas, lo que ha ocasionado con el tiempo la selección de cepas resistentes a este agente^{3,4,53}. El porcentaje de resistencia encontrado por nosotros es semejante al reportado por Sobottka⁷¹, en un estudio realizado en 37 pacientes con periodontitis. En este trabajo se encontró que el 54% de las cepas Grampositivas, fue resistente a este antibiótico (CMI = 16 µg/ml).

Amoxicilina

En nuestro trabajo la distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria de Amoxicilina fue trimodal, sensible en el rango de 3.9 µg/ml (16%), moderadamente resistente en el intervalo de 15.6-125 µg/ml (44%) y resistente en el rango de 250-500 µg/ml (40%) (**Fig. 7**). Nuestros datos contrastan con los reportados por Handal²⁸ en un caso realizado en cepas Grampositivas obtenidas de pacientes con periodontitis refractaria, en donde el 100% de las cepas fue sensible en el intervalo de 0.125-0.19 µg/ml. En otro estudio realizado por Rolin de Sousa⁶⁷, en 30 pacientes que presentaron

emergencia dental, se detectó que el 100% de las cepas responsables fue sensible a este antimicrobiano en el rango de 0.032-0.025 µg/ml.

Ceftazidima

En este estudio reportamos que la Ceftazidima presentó un comportamiento bimodal, sensible en el intervalo de 3.9 µg/ml (16%) (**Fig. 8**), y resistente en el rango de 62.5-250 µg/ml (84%). En un estudio realizado en el 2003 en el Instituto Noruego de Salud Pública, en 25 casos de periodontitis refractaria marginal²⁸ se encontró que el 25% de las cepas aisladas fue sensible a este agente (CMI = 3 µg/ml).

Oxitetraciclina

En este estudio se encontró que la distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria de Oxitetraciclina fue bimodal (**Fig. 9**), sensible en el intervalo de 3.9-7.8 µg/ml (16%) y resistente en el rango de 15.6-125 µg/ml (84%). Nuestros datos discrepan totalmente con los reportados en un estudio realizado en un hospital de Oslo Noruega²⁸ con 25 pacientes con periodontitis, en donde el 100% de las cepas Grampositivas responsables de las infecciones fue sensible a este agente en el rango 0.125-0.19 µg/ml.

Ampicilina más Sulbactam y Cefotaxima

En nuestro trabajo reportamos que el 100% de las cepas fue sensible a la Ampicilina más Sulbactam y Cefotaxima en una CMI • 3.9 µg/ml (**Fig. 10** y **Fig. 11**, respectivamente). Nuestros resultados reflejaron que estos antibióticos fueron los más efectivos para combatir las infecciones de los conductos radiculares ocasionadas por bacterias Grampositivas. Por ejemplo, en un estudio realizado en bacterias Grampositivas aisladas de 25 pacientes con periodontitis refractaria marginal, se encontró que el 100% de las cepas aisladas fue sensible a Cefotaxima en una CMI • 0.38 µg/ml²⁸. En un trabajo realizado por Muñoz⁵⁷ a partir de bacterias Grampositivas aisladas de 122 pacientes con infecciones postoperatorias del Hospital general de Tlanepantla, se encontró que el 100% de las cepas fue sensible a la Ampicilina mas Sulbactam (CMI = 3.9 µg/ml).

Clindamicina

En nuestro estudio encontramos que el 100% de las cepas Grampositivas fue resistente a la Clindamicina en una CMI • 4000 $\mu\text{g/ml}$ (**Fig. 12**). Nuestros resultados son semejantes con lo obtenido por Sobottka⁷¹, quién reporto que a partir de 37 casos de pacientes con abscesos odontogenicos, el 69% de las cepas aisladas fue resistentes a este agente. En otro estudio realizado en la Universidad del Estado de Campinas, Brasil, en bacterias aisladas de 48 pacientes, se encontró que el 100% de las cepas fue sensible a este agente en el rango de 0.016 - 0.125 $\mu\text{g/ml}$.⁶⁷

Gramnegativos

Ampicilina

En este trabajo reportamos que la distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria de Ampicilina por parte de las cepas Gramnegativas fue bimodal (**Fig. 13**), moderadamente resistente en el rango de 31.2-62.5 µg/ml (83%) y resistente en el intervalo de 250 µg/ml (17%). Nuestro porcentaje de resistencia bacteriana a este agente es semejante al reportado por Handal²⁸ en un estudio realizado en cepas bacterianas Gramnegativas aisladas de pacientes con periodontitis. En este trabajo la mayoría de las cepas fue resistente a la Ampicilina en el rango 0.25-256 µg/ml.

Penicilina

En nuestro estudio describimos que el 100% de nuestras cepas Gramnegativas fue resistente a la penicilina (CMI 2000-4000 µg/ml, **Fig. 14**). La elevada resistencia de las bacterias a este antibiótico refleja que el uso indiscriminado ha sido el principal factor de la selección de cepas resistentes a este agente, corroborando lo propuesto por otros autores^{3, 4, 16, 17}. Por ejemplo en un estudio realizado por Sobottka y col.⁷¹, en 87 cepas bacterianas Gramnegativas aisladas de 37 pacientes con abscesos dentales, se encontró que la mayoría de las cepas fue resistente a este agente.

Amoxicilina

Nosotros reportamos que la Amoxicilina presentó un comportamiento bimodal, con el 75% de las cepas moderadamente resistentes (CMI 250-1000 µg/ml) y el 25% resistentes (CMI 2000-4000 µg/ml) (**Fig. 15**). Nuestros datos discrepan de los resultados encontrados por Rolin de Sousa⁶⁷, en un estudio realizado en cepas aisladas de 30 pacientes infectados, en el cual reportó que el 100% de las cepas fue sensible a la Amoxicilina en el intervalo de <0.016-0.047 µg/ml. En otro estudio realizado en la Universidad de Oslo Noruega²⁸, en bacterias aisladas de 25 casos de periodontitis, se encontró que el 75% de las cepas fue resistente a la Amoxicilina

Ceftazidima

En nuestro estudio reportamos que la distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria de Ceftazidima fue trimodal, sensible en el rango 3.9

$\mu\text{g/ml}$ (42%), moderadamente resistente en el intervalo de 62.5-250 $\mu\text{g/ml}$ (50%) y resistente en el intervalo 1000 $\mu\text{g/ml}$ (8%) (**Fig. 16**). En un estudio realizado por Handal²⁸ en 25 pacientes con periodontitis refractaria se centro que la mayoría de las cepas Gramnegativas fue sensible a este agente.

Oxitetraciclina

Para Oxitetraciclina reportamos una distribución trimodal por parte de las cepas bacterianas (**Fig. 17**), sensible en el rango de 3.9 $\mu\text{g/ml}$ (67%), moderadamente resistente en el intervalo de 31.2 $\mu\text{g/ml}$ (25%) y resistente en el rango 500 $\mu\text{g/ml}$ (8%). Nuestros datos de resistencia bacteriana son semejantes a los reportados en un hospital de Oslo Noruega²⁸ con 25 pacientes de periodontitis, en donde el 60% de las cepas bacterianas aisladas fueron resistentes a este agente (CMI • 12 $\mu\text{g/ml}$, 40%).

Ampicilina más Sulbactam y Cefotaxima

En este estudio reportamos que el 100% de las cepas fue sensible a la Ampicilina más Sulbactam y Cefotaxima (**Fig. 18** y **Fig. 19**, respectivamente) con CMI • 3.9 $\mu\text{g/ml}$. Nuestros datos reflejan que en la actualidad estos antimicrobianos son eficaces para combatir infecciones ocasionadas por bacterias Gramnegativas. Por ejemplo, en un estudio realizado en bacterias Gramnegativas aisladas de 25 pacientes con periodontitis refractaria marginal, se encontró que el 100% de las cepas fue sensible a Cefotaxima en una CMI • 0.064 $\mu\text{g/ml}$.²⁸ En un trabajo realizado en el Hospital General de Tlanepantla⁵⁷, se encontró que de a partir de bacterias Gramnegativas aisladas de 122 pacientes con infecciones postoperatorias, el 100% fue sensible a al Ampicilina más Sulbactam en la CMI=3.9 $\mu\text{g/ml}$.

Clindamicina

En este trabajo reportamos que el 100% de las cepas bacterianas fue resistente a la Clindamicina (CMI • 2000 $\mu\text{g/ml}$, **Fig. 20**). Nuestro porcentaje discrepa del encontrado por Sobottka⁷¹, en un estudio realizado en cepas aisladas de 37 pacientes con abscesos odontogénicos, en donde el 25% de las cepas fue resistente a la Clindamicina. En otro estudio realizado en Brasil⁶⁷, en bacterias aisladas de 70 pacientes, dentro de los cuales 30 de ellos no habían estado bajo tratamiento con antibióticos por seis meses, se encontró que 100% de las cepas fue sensible a la Clindamicina (CMI = 0.016 - 0.125 $\mu\text{g/ml}$).

Producción de β -lactamasas

En este estudio reportamos que el 42% de cepas Grampositivas y el 100% de las cepas Gramnegativas fueron productores de β -lactamasas (**Figuras 3 y 4**). Se ha descrito que las β -lactamasas pueden ser codificadas por plásmidos, o como en el caso de algunas bacterias Gramnegativas por el cromosoma bacteriano (es probable que la mayoría produzca cuando menos una β -lactamasa y que éstas sean específicas para género y especie)⁷⁴. Por ejemplo, en un estudio realizado por Handal²⁸ en 25 pacientes con infecciones odontogénicas, se detectó que el 100% de las cepas Grampositivas y Gramnegativas recuperadas, fue productora de β -lactamasas.²⁸

Las β -lactamasas de las bacterias Grampositivas se excretan extracelularmente y destruyen el antibiótico antes que entre en contacto con la superficie de la célula, en tanto que las producidas por las Gramnegativas se sitúan en el espacio periplásmico presentando una barrera para la difusión de las cefalosporinas al interior de las células.⁷⁴

En *S. aureus* se han descrito cuatro diferentes tipos de penicilinasas (A, B, C y D)⁶⁶, que difieren en su estructura solamente en pocos aminoácidos, lo que conduce a tasas de hidrólisis distintas; por ejemplo, A y B hidrolizan rápidamente a la Bencilpenicilina y la Ampicilina, pero muy poco a la Meticilina y Cloxacilina.

Con excepción de la Penicilinasas A, B, C y D, cuya expresión es constitutiva⁶⁸ todas son inducibles y la mayoría de su actividad es extracelular⁶⁶.

Otro de los mecanismos de resistencia que presentan las bacterias a los antibióticos β -lactámicos es debido a mutaciones cromosómicas que alteran la cantidad o afinidad de proteínas de membrana externa llamadas PBPs (Penicillin Binding Proteins). La introducción en 1960 de la Meticilina, un compuesto derivado de la Penicilina y resistente a β -lactamasa, fue seguida rápidamente por la aparición de cepas resistentes. Estas proteínas son numeradas en orden decreciente sobre la base de su peso molecular, de acuerdo con el corrido electroforético en gel de poliacrilamida. La cantidad de PBPs encontradas en la pared bacteriana varía de una especie microbiana a otra: como ya se mencionó antes *S. aureus* tiene 4, *E. coli* posee al menos 7, etc.⁴²

La resistencia a Meticilina se debe, probablemente, a la proteína PB2a que tiene baja afinidad por los compuestos β -lactámicos.³⁰

En *S. aureus* se han descrito mutaciones que alteran las PBPs confiriéndole resistencia a Cefradrina²², así como también, un transposón que codifica para una β -lactamasa. Este elemento genético móvil, designado Tn552, está constituido por 6,700 pares de bases y se encuentra tanto en plásmidos como en el cromosoma⁶⁹.

Esta β -lactamasa hidroliza a las cefalosporinas de segunda generación (Cefoxitina, Cefamandol y Cefuroxima) y a las de tercera generación (Cefotaxima, Moxalactam, Cefoperazome y otras). La afinidad de los diferentes β -lactámicos es diferente para cada PBP, otros β -lactámicos cuando su concentración es adecuada pueden unirse a más de una PBP (PBP1a y PBP1b) lo cual desencadena una rápida respuesta celular lítica en algunos bacilos Gramnegativos a las penicilinas y cefalosporinas⁴⁵.

Las cefalosporinas de tercera generación y los carbapenems surgieron como una necesidad ante la presencia de bacilos Gramnegativos productores de β -lactamasas, tanto cromosómicos como plasmídicos⁵⁴, capaces de inactivar los β -lactámicos en uso.

También se han introducido antimicrobianos resistentes a la penicilinas producida por *S. aureus*, éstos incluyen a las penicilinas semisintéticas: Meticilina, Oxacilina, Nafclicina y otras.⁶⁶

Se ha reportado que tanto el Sulbactam, como el Clavulanato y el Tazobactam son compuestos que se unen a las enzimas β -lactámicas, las inactivan de manera irreversible y destruyen la barrera enzimática de la bacteria. Cuando se combinan con Ampicilina, Ticarcilina y Piperacilina, impiden su destrucción por las β -lactamasas. Estos agentes combinados tienen un espectro ampliado que incluye *S. aureus*, *B. fragilis* así como bacilos Gramnegativos aerobios. Pero además existen β -lactamasas mediadas por cromosomas halladas en especies de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Providencia* y especies de *Serratia*, las cuales pueden no ser inhibidas de manera uniforme.^{52, 55}

CONCLUSIONES

1. Las principales bacterias Grampositivas aisladas de los pacientes con los conductos radiculares infectados fueron, *Staphylococcus aureus*, seguida de *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus* spp. y *Micrococcus* spp.
2. Dentro de las bacterias Gramnegativas que infectaron los canales radiculares de los pacientes encontramos a *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella ozaenae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Chryseromonas luteola*, *Acinetobacter baumannii* y *Proteus mirabilis*.
3. La mayoría de las cepas Grampositivas y Gramnegativas analizadas en este estudio fueron resistentes a la Ampicilina, Penicilina, Amoxicilina, Ceftazidima, Oxitetraciclina y Clindamicina.
4. Los antibióticos más eficaces para combatir las infecciones ocasionadas por bacterias Grampositivas y Gramnegativas fueron la Ampicilina más Sulbactam y la Cefotaxima.
5. La mayoría de las bacterias analizadas fueron productoras de β -lactamasas.
6. Los resultados obtenidos en este estudio reflejan la importancia de probar la susceptibilidad a los antibióticos en las bacterias responsables de las infecciones radiculares, con la finalidad de prescribir el antimicrobiano más eficaz.

BIBLIOGRAFIA

1. Abou-Rass M, Bogen G. 1998. Microorganisms in Closed Periapical Lesions. *International Endod. J.* **31**(1): 39-47.
2. Accorsi S, Lavagnoli G, Frigeri S, Fiamminghi L. 1990. Significance of the bacterial flora in the etiology of apical periodontitis. Qualitative, quantitative and topographical aspects. *G Endod.* **4**(2): 22-30.
3. Alhalel B, Gottuzzo E, Pamo O, González J. 1988. Manual Práctico de Terapia Antimicrobiana. Lima.
4. Amabile CF. 1988. La Resistencia Bacteriana a los Antibióticos. *Ciencia y Desarrollo. CONACyT.* **26**(80): 57-68.
5. Appleman MD, Heseltine PNR, Cherubi CE. 1991. Epidemiology, antimicrobial susceptibility, pathogenicity and significance of Bacteroides Fragilis group organisms isolated at Los Angeles Country B University of Southern California Medical Center. *Rev Infect Dis.* **13**: 12-18.
6. Bae KS, Baumgartner JC, Shearer TR, David LL. 1997. Occurrence of *Prevotella nigrescens* and *Prevotella intermedia* in infections of endodontic origin. *USA J Endod.* **23**(10), 620-623.
7. Bailey S. 1989. Diagnostico Microbiológico. Buenos Aires.
8. Baumgartner JC, Falkler WA Jr. 1991. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *J Endodont.* **17**(8): 380-383.
9. Baumgartner JC, Falkler WA Jr, Beckerman T. 1992. Experimentally induced infections by oral anaerobic microorganisms in a mouse model. *Oral Microbiol Immunol* **7**:253.
10. Bennett PM, Chopra I. 1993. Molecular Basis of β -lactamases Induction in Bacteria. *Antimicrob Agent Chemother.* (37): 153-158,
11. Block RM, Bushell A, Rodrigues H, Langeland K. 1976. A histopathologic, histobacteriologic, and radiographic study of periapical endodontic surgical specimens. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* (42), 656.
12. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. 2002. Microbiología Médica. 17ª ed. México.
13. Burnett GW, Sherp HW. 1986. Microbiología y Enfermedades Infecciosas de la Boca. México.
14. Carrillo ER, Téllez MMA, Salinas RS. 2000. *Staphylococcus xylosus*; Una Bacteria Emergente. *Rev. Med. Hop. Gen. Mex.* **63**(2): 107-111.
15. Comber KR. 1980. Activity of amoxicillin/clavulanic acid (2:1) BEL 25000 augmetin in vitro in vivo, current chemotherapy and infectious disease. *Proceeding 19th ICAAC.* (1): 343.

16. Comegna M, Guzmán MB, Carmona O, Molina M. 2000. Resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela-Nuevos hallazgos. *Rev. Soc. Venez. Micro.* **20**(1).
17. Cires PM. 2002. La Resistencia a los Antimicrobianos, un Problema Mundial. *Rev. Cubana Med. Integr.* **18**(2).
18. Cuesta R. 1988. Antimicrobianos betalactámicos. *Manual de farmacología. Segunda parte.* La Habana.
19. Dahlen G, Wikstrom M. 1995. Occurrence of enteric rods, *Staphylococci* and *Candida* in subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol.* **10** (1):42-46.
20. Fresno CC. 2001. El Diseño de Nuevos Antibióticos. *Rev. Cubana Med. Gen. Integr.* **17**(2): 196-199.
21. Fouad AF, Walton RE, Rittman BR. 1992. Induced periapical lesions in ferret canines: histologic and radiographic evaluation. *Endod Dent Traumatol.* **8**(2): 56-62.
22. Georgopapadakou NH. 1982. Penicillin-binding proteins in a *Staphylococcus aureus* strain resistant to specific β -lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents. Chemoter.* (22): 172-175.
23. Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB. 1996. Clinical significance of dental root canal microflora. *J. Dent.* **24**(1-2): 47-55.
24. Gomez CJF. 2000. ¿Que Antibióticos Prescribimos los Dentistas?. *Rev. ADM.* **57**(4): 143-146.
25. Haapasalo M. 1986. *Bacteroides buccae* and related taxa in necrotic root canal infections. *J Clin Microbiol.* (24): 940.
26. Haapasalo M, Ranta H, Rantah K, Shah H. 1986. Black-pigmented *Bacteroides spp.* in human apical periodontitis. *Infected Immunol.* (53):149-153.
27. Haapasalo M. 1993. Black-pigmented gram-negative anaerobes in endodontic infections. *Immunol Med Microbiol.* **6**(2-3): 213-217.
28. Handal T, Caugant DA, Olsen I. 2003. Antibiotic Resistance in Bacteria Isolated from Subgingival Plaque in Norwegian Population with Refractory Marginal Periodontitis. *J. Antimicro. Agents and Chemo.* **47**(4): 1443-1446.
29. Hahn C, Falkler WA Jr, Minah GE. 1993. Correlation between thermal sensitivity and microorganisms isolated from deep carious dentin. *J. Endod.* (19): 26.
30. Hartman BJ, Tomaz A. 1984. Low-affinity penicillin binding protein associated with β -lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* (158): 513-516.

31. Heckmann SM, Heckmann JG, Linke JJ, Hohenberger, Mombelli. 2004. Implant Therapy Following Liver Transplantation: Clinical and Microbiological Results After 10 Years. *J. Periodont.* **75**(6): 909-913.
32. Horiba N, Maekawa Y, Abe Y. 1991. Correlations between endotoxin and clinical symptoms or radiolucent areas in infected root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* **71**: 49.
33. Hashioka K, Yamasaki M, Nakane A. 1992. The relationship between clinical symptoms and anaerobic bacteria from infected root canals. *J Endodont.* **18**: 558-561.
34. Heimdahl A, Von Konow L, Satoh T, Nord CE. 1985. Clinical appearance of orofacial infections of odontogenic origin in relation to microbiological findings. *J Clin Microbiol.* **22**: 299-302.
35. Howorth TT, King TJ. 1976. Clavulanic acid, a novel β -lactam antibiotic isolated from *Streptomyces clavurigenus*. *J Chem Soc Commun.* (27), 226-267
36. Ingle JI, Bakland LK. 1994. Endodoncia. 3^a ed. México.
37. Iwu C, MacFarlane TW, MacKenzie D, Stenhouse D. 1990. The microbiology of periapical granulomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* **69**: 502-505.
38. Jacinto RC, Gomes BF, Ferraz CC, Zaia AA, Souza Filho FJ. 2003. Microbiological analysis of infected root canals from symptomatic and asymptomatic teeth with periapical periodontitis and the antimicrobial susceptibility of some isolated anaerobic bacteria. *Oral Microbiol. Immunol.* (18): 285-292.
39. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM. Zinsser. 1998. Microbiologia. 20^a ed. Argentina.
40. Juárez AI. 2003. Identificación de microorganismos aislados de pacientes con conductos radiculares infectados o necróticos. Tesis. Iztacala, México.
41. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. 1965. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* (20): 340-348.
42. Kapusnik JR, Tyler R, Sander MA. 1991. Terapéutica antimicrobiana en terapia intensiva. *Tratado de Medicina Crítica y Terapia Intensiva de Shoemaker.* 2 ed. Buenos Aires.
43. Khayat A, Lee SJ, Torabinejad M. 1993. Human Saliva Penetration of Coronally Unsealed Obturated Root Canals. Dep. of Endod., Shiraz Univ. Iran. *J. of Endod.* **19**(9): 458-461.
44. Kurono Y, Tomonaga K, Mogi G. 1988. *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* in Otitis media With Effusion. Dep.

- Otolaryngology, Med. College of Oita, Japan. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* **11**(114): 1262-1265.
45. Lambert HP, O'Grady FW. 1992. Antibiotic and chemotherapy. 6 ed. London.
 46. Lavagnoli G, Accorsi S, Brenna F, Fiamminghi L. 1990. Morpho-functional characteristics of bacterial species of major importance in endodontic infections. *G Ital Endod.* **4**(3): 38-43.
 47. Le Goff A, Bunetel L, Mouton C, Bonnaure-Mallet M. 1997. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. *Oral Microbiol Immunol.* **12**(5), 318-22.
 48. Listgarten MA, Lai CH, Young V. 1993. Microbial composition and pattern of antibiotic resistance in subgingival microbial samples from patients with refractory periodontitis. *Oral Microbiol Immunol. J Periodontol.* **64**(3):155-61.
 49. Livermore DM, Brown DF. 2001. Detection of β -lactamase-mediated resistance. *J. Antimicro. Chemo.* (48): 59-64.
 50. Loesche WJ, Grossman NS. 2001. Periodontal Disease as a Specific, albeit Chronic, Infection: Diagnosis and Treatment. *Clinic. Microbiol Rev.* **14**(4): 727-752.
 51. Maita E, Horiuchi H. 1990. Polyamine analysis of infected root canal contents related to clinical symptoms. *Endodont Dent Traumatol.* **6** (5): 213-217.
 52. Mandell GL, Petvi WA Jr. 1996. Agentes antimicrobianos penicilinas y cefalosporinas. *Goodman Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica.* 9 ed. México.
 53. Martín N. Guzmán B. Efecto de Inhibidores de β -lactamasas Sobre la Evolución de la Resistencia a β -láctamicos en Bacilos Gram-negativos. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* **22** (1). 2002.
 54. Medeiros A. 1997. Recent Increases in Resistance: Mechanisms and Organisms Evolution and Dissemination of β -lactamases Accelerated by Generatios of β -lactam Antibiotics. *Clin Infec Dis.* (24), 19-45.
 55. Mensa J, Gateil J, Prats G, Jiménez MT, Corachan M, Escufet MC, et al. 1996. Guía de Terapéutica Antimicrobiana. 6 ed. Barcelona.
 56. Möller AJR, Fabricius L, Dahlen G. 1981. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res.* **89**(6): 475-484.
 57. Muñoz TN. 2003. Efectividad de antibióticos β -láctamicos en bacterias aisladas de pacientes con infecciones postoperatorias. Tesis. Tlanepantla, México.
 58. Murray PR, Kobayashi GS. 1997. Microbiología Médica. España.

59. Nair PNR, Sjögren U, Krey G. 1990. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endodont* **16**(12): 580-508
60. Negoni M. 1999. Microbiología Estomatológica. Buenos Aires.
61. Nolte WA. 1985. Microbiología Odontológica. México.
62. Paniagua G, Moroy E, García O, Vaca S. Effect of Beta-lactamase Inhibitors on Minimum Inhibitory Concentration of Ampicillin and Amoxicillin for *Staphylococcus aureus* strains. *Rev Latin Microbiol.* (40), 128-134. 2001.
63. Parry MF. 1988. Penicilinas: actualización sobre antibióticos. *Clin Med Norteam.* (2): 1159-78.
64. Rams TE, Babalola OO, Slots J. 1990. Subgingival occurrence of enteric rods, yeasts and staphylococci after systemic doxycycline therapy. *Oral Microbiol Immunol.* 5(3):166-168.
65. Requa-Clark B. 1999. Applied Pharmacology. 4^a ed. St. Lous.
66. Richmond MH. 1965. Wild-type variants of exopenicillinase from *Staphylococcus aureus*. *Biochem. J.* (94): 584-593.
67. Rolin de Sousa EL, Randi CC, Figueiredo de Almeida BP, Tavares EP, Batista FT, Souza-Filho FJ. 2003. Bacteriological study of root canals associated with periapical abscesses. *Oral Sug. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* **96**(3): 332-339.
68. Rosedahl VT. 1993. Naturally occurring constitutive β -lactamase of novel serotype in *Staphylococcus aureus*. *J Gen. Microbiol.* **77**: 229-231.
69. Rowland SJ, Dyke KG. 1989. Characterization of the staphylococcal β -lactamase transposon Tn552. *EMBO J.* (8): 2761-2773.
70. Schnel BR, Gray J, Grymonpre R, Mac Cannell K.L, McLeod PJ, Patterson CJ. 1996. Compendium of pharmaceuticals and specialities. 31 ed. Ottawa. Canadian Pharmaceutical Association.
71. Sobottka I, Cahovan G, Stürenburg E, Ahlers O, Laufs R, Platzer, Mack D. 2002. In Vitro Activity of Monofloxacin against Bacteria Isolated From Odontogenic Abscesses. *Antimicro. Agents and Chemo.* **46**(12): 4019-4021.
72. Sunde PT, Olsen I, Debelian GJ, Tronstad L. 2002. Microbiota Lesions Refractory to Endodontic Therapy. Dep. Of Endod. and Inst. of Oral Bio., Dental Faculty, Univ. of Oslo Norway. *J. Endod.* **28**(4): 304-310.
73. Sundqvist GK, Eckerbom MI, Larsson AP. Sjögren UT. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. *Infected Immunol.* (25): 685. 1979.

74. Sykes R.B, Mathew M. 1976. The β -lactamases of gram-negative bacteria and their role in resistance to β -lactam antibiotics. *Antimicrob. Chemoter.* (2): 115-157.
75. Tronstad L, Barnett F, Cervone F. 1990. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod Dent Traumatol.* **6**(2): 73-7.
76. Walton RE, Ardjmand K. 1992. Histological evaluation of the presence of bacteria in induced periapical lesions in monkeys. *J Endodon.* **18**(5): 216-227.
77. Wayman BE, Murata SM, Almeida RJ, and Fowler CB. 1992. A bacteriological and histological evaluation of 58 periapical lesions. *J Endod.* **18**(4): 152-155.
78. Wynn RL, Meiller TF. Drug Information Handbook for Dentistry. 5^a ed. Cleveland. 1999-2000.
79. Yamasaki M, Nakata K, Imaizumi I, Iwama A, Nakane A, Nakamura H. 1998. Cytotoxic effect of endodontic bacteria on periapical fibroblasts. Japan. *J Endod.* **24**(8): 534-539.
80. Zamora R, Cordies S, Galhardo M. 1990. Las penicilinas. *Acta Méd.* **4**(2):213-223.