

# Frecuencia de Bacilos Gram Negativos en la cavidad bucal de estudiantes de una Universidad de Asunción

Frequency of Gram Negative Bacilli in the oral cavity of students of a University of Asunción

\*Carlos Rafael Invernizzi Mendoza<sup>1</sup> 

Stella Anahi Chamorro Giménez<sup>2</sup> 

Rosa María Cardozo Vera<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Asunción, Facultad de Ciencias de la Salud. Asunción, Paraguay

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Asunción. Facultad de Ciencias de la Salud. Odontología. Asunción, Paraguay.

## RESUMEN

**Introducción:** La cavidad bucal hospeda una gran cantidad de microorganismos, como los bacilos Gram negativos, y entre ellas, bacterias de gran importancia médica debido a su capacidad de producir enfermedades graves para el ser humano, especialmente en pacientes inmunodeprimidos. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de Bacilos Gram Negativos y sus patrones de resistencia a antibióticos, en una población estudiantil de la ciudad de Asunción, en los años 2019 y 2020. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio observacional, descriptivo de corte transversal, donde se realizaron hisopados de la cavidad bucal a 35 alumnos de entre 18 a 24 años, de una universidad privada en la ciudad de Asunción. Se requirió consentimiento informado firmado por los participantes y fueron excluidos quienes tuvieron tratamientos antibióticos. Las muestras fueron obtenidas con un hisopo de algodón, posteriormente se colocaron en un medio de transporte para luego ser cultivadas en Agar MacConkey. El cultivo se realizó por 48 horas a 37° centígrados, luego se procedió a la identificación bacteriana. Por último, se realizó el antibiograma. **Resultados:** De los 35 alumnos se encontró una frecuencia de 48,57% de bacilos Gram negativos. Cepas de *Klebsiella pneumoniae* fueron las más frecuentes (35,29%). Se observó que las bacterias eran altamente resistentes a la Amoxicilina/Ácido Clavulánico. **Conclusiones:** La presencia de estos tipos de microorganismos puede ser peligrosa para la salud general de las personas, específicamente de los pacientes con algún tipo de inmunodepresión, debido a la gran resistencia a antibióticos presentadas por algunas cepas.

**Palabras claves:** Cavidad bucal, Infecciones por Bacterias Gramnegativas, Diagnóstico Oral, Prueba de Sensibilidad Bacteriana.

Correo de correspondencia: Correo: [carlosinvernizzi@hotmail.com](mailto:carlosinvernizzi@hotmail.com)

Fecha de recibido: 03 de mayo de 2023

Fecha de aceptación: 22 de mayo de 2023

**Contribución de los autores:** CRIM participó en la concesión de la idea, el diseño del estudio, la obtención, análisis e interpretación de los datos, escritura del artículo y aprobación de la versión a ser publicada. SACG y RMVC participaron en el diseño del estudio, la obtención, análisis e interpretación de los datos y la escritura del artículo.

**Financiamiento:** El estudio no tuvo financiación externa

**Conflicto de Interés:** Los autores declaran no tener conflictos de interés.

## ABSTRACT

**Introduction:** The oral cavity hosts a large number of microorganisms, such as Gram negative bacilli, and among them, bacteria of great medical importance due to their capacity to cause serious diseases for humans, especially in immunosuppressed patients. The objective of this work was to determine the presence of Gram Negative Bacilli and their patterns of resistance to antibiotics, in a student population of the city of Asunción, in the years 2019 and 2020. **Materials and methods:** An observational, descriptive cross-sectional study was carried out, where oral cavity swabs were made from 35 students between 18 and 24 years of age, from a private university in the city of Asunción. Informed consent signed by the participants was required and those who had antibiotic treatments were excluded. The samples were obtained with a cotton swab, later they were placed in a transport medium to later be cultured in MacConkey Agar. The culture was carried out for 48 hours at 37° Celsius, then the bacterial identification was carried out. Finally, the antibiogram was performed. **Results:** Of the 35 students, a frequency of 48,57% of Gram negative bacilli was found. *Klebsiella pneumoniae* strains were the most frequent (35.29%). The bacteria were found to be highly resistant to Amoxicillin/Clavulanic Acid. **Conclusions:** The presence of these types of microorganisms can be dangerous for the general health of people, specifically of patients with some type of immunosuppression, due to the great resistance to antibiotics presented by some strains. **Keywords:** Oral cavity, Gram-Negative Bacterial Infections, Diagnosis Oral, Bacterial Sensitivity Test.

## INTRODUCCIÓN

La cavidad bucal ofrece el portal perfecto de entrada a virus y bacterias del medio ambiente, por lo tanto, es uno de los hábitats más densamente poblados del cuerpo humano, se hospedan en él una gran cantidad de microorganismos, como los Bacilos Gram Negativos, de gran importancia médica debido a su capacidad de producir enfermedades graves para el ser humano, especialmente en pacientes inmunodeprimidos<sup>(1-3)</sup>.

La familia *Enterobacteriaceae*, cuyo hábitat natural es el intestino del ser humano, es un grupo heterogéneo y extenso de Bacilos Gram Negativos, entre los cuales encontramos a: *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* entre otros. Algunos microorganismos entéricos como *Escherichia coli* son parte de la microbiota normal y en contadas ocasiones originan enfermedades, en cambio existen otras cepas que producen enfermedades que llevan a la muerte de los pacientes<sup>(4-6)</sup>.

Existe un incremento de la resistencia a antibióticos por parte de estos microorganismos en todo el mundo, y en Paraguay, existen diversos estudios de muestras hospitalarias que reportan la existencia de cepas de Enterobacterias productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE), condición que podría ser grave debido a la complejidad de tratamiento que estas cepas de microorganismos requieren<sup>(7-11)</sup>.

Una bacteria es sensible a un antibiótico cuando el antibiótico es eficiente frente a ella y podemos aguardar la remisión de la infección, por otra parte, es resistente cuando su crecimiento solo puede ser impedido a concentraciones mayores a las que el fármaco pueda llegar en la zona de la infección. Se relacionan a una mayor morbilidad y mortalidad las infecciones provocadas por bacterias multi resistentes<sup>(12-15)</sup>.

Se ha visto que los bacilos entéricos codifican en su genoma genes de resistencia a antibióticos de uso común como los Betalactámicos, grupo de antibióticos mayormente usado en la práctica odontológica, lo cual ocasiona problemas en el tratamiento de las infecciones; ya que pueden llegar a generar resistencia a los antibióticos como la amoxicilina o a terapias alternas como lo son la doxiciclina y ciprofloxacina<sup>(12-20)</sup>.

El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de Bacilos Gram Negativos y sus patrones de resistencia a antibióticos, en una población estudiantil de la ciudad de Asunción, en los años 2019 y 2020.

## MATERIALES Y MÉTODOS

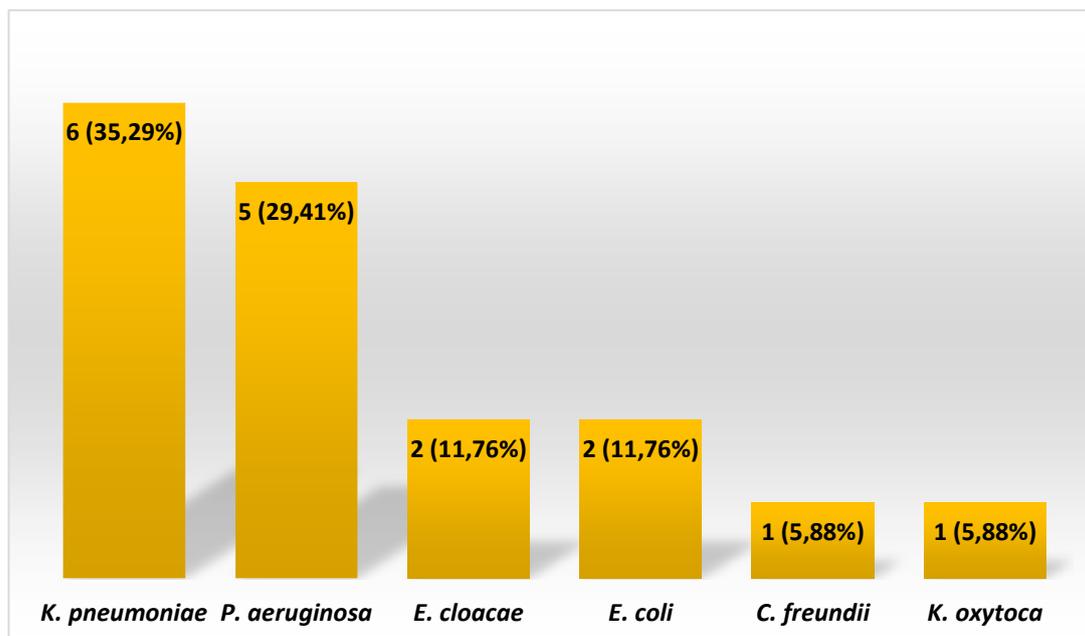
Se realizó un estudio observacional, descriptivo, de corte transversal, en donde se realizaron hisopados de la cavidad bucal a 35 alumnos de una Universidad de Asunción, de ambos sexos, de entre 18 a 24 años de edad. Para participar del trabajo se requirió de un consentimiento informado firmado por los participantes, donde se presentó los pormenores del estudio. Las variables estudiadas fueron presencia de Bacilos Gram Negativos en cavidad oral, frecuencia de las distintas especies aisladas, y la susceptibilidad a distintos antibióticos por parte de estas. Se excluyeron del estudio a quienes tuvieron tratamientos antibióticos recientes, tanto locales como sistémicos.

Las muestras fueron obtenidas mediante un hisopado de la cavidad bucal, abarcando lengua, encía y fondo de surco vestibular, realizado con un hisopo de algodón estéril, se colocaron en un medio de transporte (Stuart) para luego ser cultivadas en Agar MacConkey, específico para el crecimiento de los Bacilos Gram Negativos. El cultivo se realizó por 48 horas en estufa a 37° centígrados, luego se procedió a la identificación por género y especie de los microorganismos a través de pruebas bioquímicas en el laboratorio. Por último, se realizó el antibiograma de las muestras positivas con el método de difusión de disco, para reconocer los patrones de sensibilidad y resistencia a antibióticos.

Todos los datos fueron manejados de manera confidencial y asentados en planillas Excel para su posterior análisis con la herramienta Epi Info™ 7. Se respetaron los principios éticos durante todo el trabajo.

## RESULTADOS

Del total de 35 alumnos, se halló la presencia de 17 (48,57%) muestras positivas para Bacilos Gram negativos de los cuales, se pudo observar que las especies de *Klebsiella pneumoniae* fueron las que se encontraron con mayor frecuencia (35,29%), seguido por *Pseudomonas aeruginosa* (29,41%). (ver Gráfico 1).

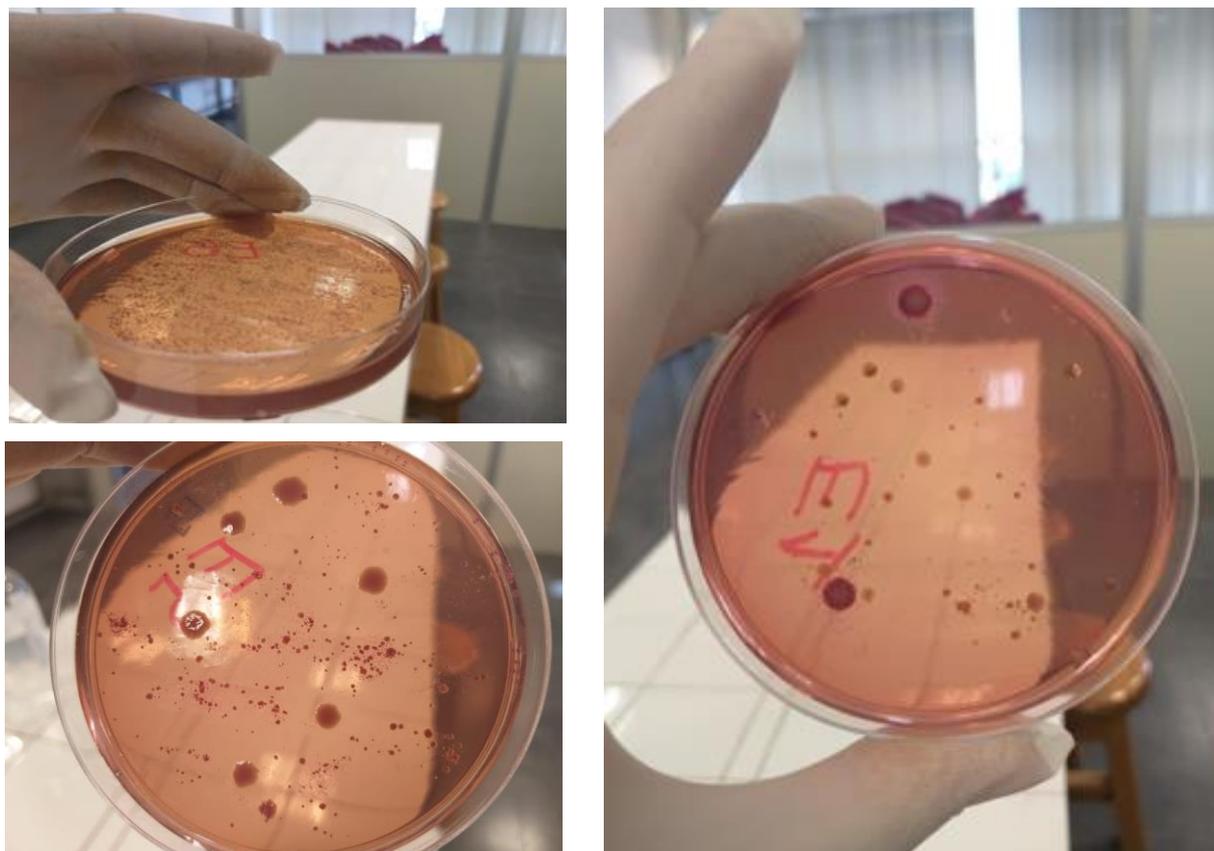


**Gráfico 1:** Frecuencia de bacilos Gram negativos aislados. n:17.

En el antibiograma se observó que las bacterias eran altamente resistentes a la Amoxicilina/Ácido Clavulánico, el cual es uno de los antibióticos más utilizados en la odontología. Un porcentaje importante también resultó resistente a la Ceftazidima y los fármacos con mejores resultados de sensibilidad in vitro fueron la Gentamicina y la Ciprofloxacina. Otros fármacos testados fueron la Cefotaxima, Trimetroprima-Sulfametoxazol, Imipenem, Piperacilina-Tazobactam, obteniéndose distintos resultados (Ver Tabla 1)

**Tabla 1:** Resistencia y sensibilidad de los microorganismos aislados.

Fármaco	Resistentes	Sensibles	Intermedia	Total
Amoxicilina/Ac. Clavulánico	6	5	-	11
Ceftazidima	4	13	-	17
Cefotaxima	2	9	-	11
Trimetoprim/sulfametoxazol	2	9	-	11
Gentamicina	1	16	-	17
Ciprofloxacina	1	16	-	17
Imipenem	2	5	-	7
Piperacilina/Tazobactam	1	5	1	7



**Figura 1:** Placas con crecimientos de bacilos Gram Negativos

## DISCUSIÓN

En el presente trabajo se halló una frecuencia de 48,57% de bacilos Gram Negativos, en otro estudio, también en nuestro país, se encontró una mayor proporción de estos microorganismos, un total de 65% estuvo presente en provisorios dentales de polimetilmetacrilato (PMM)<sup>(7)</sup>. En el trabajo de Harold y colaboradores se encontró una cifra inferior, que fue de 30% en la microbiota de la cavidad bucal de personas que viven a 3824 metros sobre el nivel del mar<sup>(21)</sup>. Khushbu y col. encontró una frecuencia de 8.48% en pacientes con dientes cariados de la Facultad de Medicina de Janaki, hospital universitario en Nepal<sup>(22)</sup>. Betancourth y Cols., encontraron una proporción de 36% de bacilos Gram negativos entéricos en la microbiota inusual de los pacientes incluidos en su trabajo, que trata sobre la microbiota inusual del surco gingival y bolsas periodontales<sup>(6)</sup>.

En nuestra investigación, las especies de *K. pneumoniae* fueron las que se encontraron con mayor frecuencia 35,29%, coincidiendo con los trabajos realizados por Betancourth, quien los aisló de la cavidad bucal en general<sup>(6)</sup>, el trabajo de Coronado et al. en el que presentaron una frecuencia del 35% de dicho microorganismo en provisorios de resina acrílica<sup>(23)</sup>; el trabajo de Khushbu y col. con 32.14% en dientes cariados<sup>(22)</sup>, y un trabajo realizado en Paraguay en el que presentaron una frecuencia de 40% en provisorios de polimetilmetacrilato<sup>(7)</sup>. En otra investigación de Leguizamón sobre aislamientos de bacilos entéricos provenientes de cavidad oral, fue el segundo bacilo Gram negativo encontrado con mayor frecuencia, con un 16%<sup>(24)</sup>.

Otro bacilo Gram Negativo aislado en un número interesante fue *Pseudomonas aeruginosa* con un 29,41%, similar a lo encontrado por Khushbu y col. con un 39.28%, en dientes cariados<sup>(22)</sup>. En un trabajo realizado por Consuegra et. al. en implantes dentales

afectados, se encontró una frecuencia menor, que fue de 1,5% (25) y en el estudio de Coronado et al se encontró una frecuencia de 17% en provisorios de resina acrílica<sup>(23)</sup>.

La bacteria que se presentó en menor frecuencia fue *Enterobacter cloacae* en un 11,76%, similar a lo aislado por Khushbu y cols con 10,71% en dientes con caries (22). Este porcentaje es menor a los aislados en provisorios de PMM, que fue de 25% (7) y mayor a lo encontrado por Coronado et al. que halló 6% en provisorios de resina acrílica (23). Por otro lado, en el trabajo de Leguizamón fue la bacteria encontrada con mayor frecuencia, con un 30% (24). En el estudio de Revelo Mejía y cols se aislaron bacilos Gram negativos en cepillos dentales en el 87,9% de los casos, y de estos el 37,2 % correspondían a *Enterobacter cloacae*<sup>(26)</sup>.

Esta variación encontrada en los diversos reportes, sobre la frecuencia de estos microorganismos podría ocurrir por diversos factores, como por ejemplo la alimentación, la higiene bucal y de las manos, la calidad del agua consumida, el comportamiento y la cultura, de cada una de las regiones y países donde las poblaciones fueron estudiadas<sup>(7)</sup>.

En cuanto al antibiograma realizado a los cultivos positivos, se observó que las bacterias eran altamente resistentes a la Amoxicilina/Ácido Clavulánico, con 54,54% de muestras resistentes, similar a lo reportado por Pérez con una resistencia de 50% a la Amoxicilina por parte de *E. coli* y *Klebsiella*<sup>(14)</sup> el cual es uno de los antibióticos más utilizados en la odontología. También lo reportado por Jaramillo en un estudio en bacterias periodontopáticas aisladas de pacientes colombianos sanos y con periodontitis, frente a 6 antimicrobianos usados comúnmente como terapia adjunta para el tratamiento de la enfermedad periodontal, con una resistencia del 87% por parte del *Enterobacter cloacae* y 100% por parte de *Klebsiella pneumoniae*<sup>(27)</sup>.

Las bacterias estudiadas también resultaron resistentes a la Ceftazidima como en el trabajo de López y cols en el cual se realizó una revisión de la literatura sobre la resistencia de estos microorganismos a dicho fármaco (20). Los antibióticos con mayor sensibilidad *in vitro* fueron la Gentamicina y la Ciprofloxacina concordando con el trabajo de Guerra y cols con un 100% y 94,5% de sensibilidad respectivamente<sup>(16)</sup> y también con el trabajo de Leguizamón de bacterias obtenidas de la cavidad bucal, con un 90%<sup>(24)</sup>.

También en el presente trabajo se encontró una sensibilidad *in vitro* del 71,42% al Imipenen, coincidiendo nuevamente con el trabajo de Bravo y cols que reportaron un 93,2%<sup>(16)</sup>.

## CONCLUSIÓN

En el presente estudio se halló una frecuencia elevada de Bacilos Gram Negativos en la cavidad bucal de la población estudiada (48,57%). La frecuencia encontrada coincide con otros hallazgos similares en otros países de la región. Entre los patrones de resistencia encontrados, se observó que algunas cepas eran multirresistentes a los antibióticos más utilizados en odontología.

La presencia de estos tipos de microorganismos puede ser peligrosa para la salud general de las personas, específicamente de los pacientes con algún tipo de inmunodepresión, debido a la gran resistencia a antibióticos presentadas por algunas cepas. La cavidad bucal es un reservorio importante para estos tipos de microorganismos, y la presencia de microorganismos potencialmente infectantes debe ser tomada con precaución debido a la constante mutación y adquisición de factores de resistencia a antibióticos.

Se recomienda continuar con estas líneas de investigación aumentando la cantidad de muestras y estableciendo correlaciones con otras patologías presentes en los pacientes.

## Referencias Bibliográficas

1. Cruz Quintana S, Díaz Sjostrom P, Arias Socarrás D, Mazón Baldeón G. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. *Rev Cubana Estomatología*. 2017; 54(1):84-99.
2. Takahashi N. Oral Microbiome Metabolism: From "Who Are They?" to "What Are They Doing?" *J Dent Res*. 2015; 94(12):1628-37.
3. Edlund A, Tasha M, Rodríguez S, Boehm T, Pride D. Bacteriophage and their potential roles in the human oral cavity. *J Oral Microbiology*. 2015;7(1):27423.
4. Pérez Guerrero, P., Galán Sánchez, F., Gutiérrez Saborido, D., Guerrero Lozano, I. Infecciones por enterobacterias. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*; 2014;11(55):3276–3282.
5. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Enterobacteriaceae. En: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, editores. *Microbiología médica*. 7a ed. Barcelona: Elsevier España, S.L; 2014. p. 258-72.
6. Betancourth M, Arce R, Botero J, Jaramillo A, Cruz C, Contreras A. Microorganismos poco usuales en surcos y bolsas periodontales. *Colombia Médica*. 2006; 37: 6.
7. Invernizzi-Mendoza CR, Ortiz-Mendoza WM, Flores-Alatorre JF. Presencia de Bacilos Gram- negativos y *Candida albicans* en provisionales de polimetilmetacrilato (PMM) en pacientes de Clínica Integrada de la Universidad Autónoma de Asunción. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*. 2020;18(1): 32-37
8. Guillén R, Velázquez G, Lird G, Espínola C, Laconich M, Meyer M et al. Estudio multicéntrico de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido: Detección de Genes blaCTX-M2 y blaPER-2. *LabCiencia*. 2009; 1:12-4
9. Guillén R, Velázquez G, Lird G, Espínola C, Laconich M, Carpinelli L et al. Detección molecular de betalactamasas de espectro (BLEE) en enterobacterias aisladas en Asunción. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*. 2015;13(2):8-16.
10. Pereira A, Fariña N, de Vega M, González P, Rodríguez F, de Figueredo L. Enterobacterias productoras de Betalactamasas de espectro extendido aisladas de pacientes ambulatorios y hospitalizados en un laboratorio privado de Asunción, Paraguay. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*. 2016;14(1):17- 24.
11. Leguizamón M, Samudio M, Aguilar G. Sensibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en infecciones urinarias de pacientes ambulatorios y hospitalizados del Hospital Central del IPS. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*. 2017; 15(3): 41-9.
12. Alós JI, Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global, *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 2015; 33, (10), 692-699.
13. Bairan G, Chávez Bravo E, Romero Guido C, Torres E. Resistencia bacteriana: un problema latente de salud mundial. *RDI*. 2022;8(22):1-12.
14. Lirola-Andreu L, Ávila A, Fernández M, Reinoso A, Martínez S. La resistencia bacteriana. Generalidades, carbapenemasas y actualidad: una revisión narrativa. *AMU*. 2022; 4(1): 65-74
15. Delgado-Serrano J, Albarracín Ruiz MJ, Rangel-Vera JA, Galeano-Salazar E, Niño-vargas D, Wilches-Cuadros MA. (Et al.) Perfil de resistencia antimicrobiana de aislamientos bacterianos en pacientes con infección urinaria de un centro de referencia en Bucaramanga. *MedUNAB*. 2020;23(3):405-22.
16. Bravo L, Majano A, Fernández A, Martínez I, Núñez F, Mederos L, et al. Susceptibilidad antimicrobiana de bacilos gramnegativos anaerobios facultativos oxidasa positiva. *AVFT*. 2009; 28(1): 23-27.
17. Tellez S, Rodríguez E, Jiménez N. Alta frecuencia de bacilos Gram negativos de importancia clínica resistentes a betalactámicos en efluentes de aguas residuales hospitalarias. *Infectio* 2023; 27(2): 78-85
18. Perianes DM, Novo VI, Solís DK, Prolo AA, García GI, Alonso CG. Bacteremia por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro

- extendido: factores asociados a mortalidad y reingreso hospitalario. *Med Clin (Barc)*. 2014; 142 (9): 381-86.
19. Guerra-Sarmiento M, Ruíz F, Arzuza L, Maestre-Serrano R. Caracterización de bacilos gramnegativos multi-resistentes, aislados en pacientes hospitalizados en instituciones de salud de Barranquilla (Colombia). *Rev. chil. infectol*. 2021;38 (2): 189-196.
  20. López-Velandia Diana Paola, Torres-Caycedo María Inés, Prada-Quiroga Carlos Fernando. Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: Impacto en la salud pública en Colombia. *Univ. Salud*. 2016;18(1): 190-202.
  21. Harold L. Larico C, Yoselin L, Ochochoque M, Huanca HR. microbiota de la cavidad bucal a 3824 metros sobre el nivel del mar. *Juliaca* 2017; 2 (5).
  22. Khushbu Y, Satyam P. Antibioqram profiles against polymicrobial pathogens among dental caries patients at Janaki Medical College teaching hospital. *Nepal International Journal of Applied Dental Sciences*. 2015;1(4): 156-162
  23. Coronado L, Tinoco V, Méndez R, Cornejo M. Identificación Bacteriana en superficies de resina Acrílica. *Revista ADM* 2017; 74 (1): 40-5.
  24. Leguizamon Gómez N. Susceptibilidad antimicrobiana por concentración mínima inhibitoria en aislamientos de bacilos entéricos provenientes de la cavidad oral [tesis] Bogotá: Universidad El Bosque; 2019. 58p.
  25. Consuegra J, Gutiérrez SJ, Jaramillo A, Sanz I, Olave G, Soto J.E. et al. Bacilos Gram negativos entéricos y no fermentadores de la glucosa en pacientes con enfermedad periimplante. *Biomédica* 2011; 31 (1): 21-26.
  26. Revelo Mejía IA, Caldas Arias L, Paz Cuastumal EJ, & Ordoñez Rengifo Y. M. Bacilos Gram negativos fermentadores de glucosa presentes en cepillos dentales pertenecientes a una población de estrato socioeconómico intermedio. *Hechos Microbiológicos*. 2019;9(1-2):28-32.
  27. Jaramillo E, Betancourth Quiroz M, Mayorga-Fayad I, Castillo Perdomo DM, Aya Castañeda MR, Lafaurie Villamil GI, et al. Antimicrobial Profiles of Subgingival Bacteria from Periodontitis Patients in Colombia. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral* 2008;1(2):61-65.