

SENSIBILIDAD "IN VITRO" DE LA FLORA MICROBIANA BUCAL AEROBIA A OCHO ANTIBIOTICOS

Prof. Dr. JULIO FLORES V.
(Ayudante)

I. INTRODUCCION

En condiciones normales, la boca del feto y del recién nacido es aséptica; pero, a las pocas horas después del parto se inicia la invasión de la cavidad bucal por bacterias, que en su mayor parte provienen del medio ambiente que rodea al recién nacido.

Estos microbios, al encontrar en la boca un conjunto de condiciones favorables para su vida, se establecen en ella, se multiplican y después de experimentar diversas modificaciones cualitativas y cuantitativas por la acción de variados factores, llegan a constituir la flora microbiana normal de la boca del hombre adulto.

Esta flora microbiana normal se caracteriza por su polimicrobismo, lo cual significa que está integrada por numerosas especies, aerobias unas, anaerobias otras; saprófitas unas, potencialmente patógenas otras, y que, en condiciones normales, mantienen un estado de equilibrio entre ellas y el organismo que las alberga, y entre ellas mismas.

Este equilibrio está condicionado y mantenido por el normal funcionamiento de un conjunto de mecanismos defensivos de la boca, que actúan impidiendo una multiplicación exagerada de las especies microbianas y evitando que la flora microbiana normal penetre al resto del organismo.

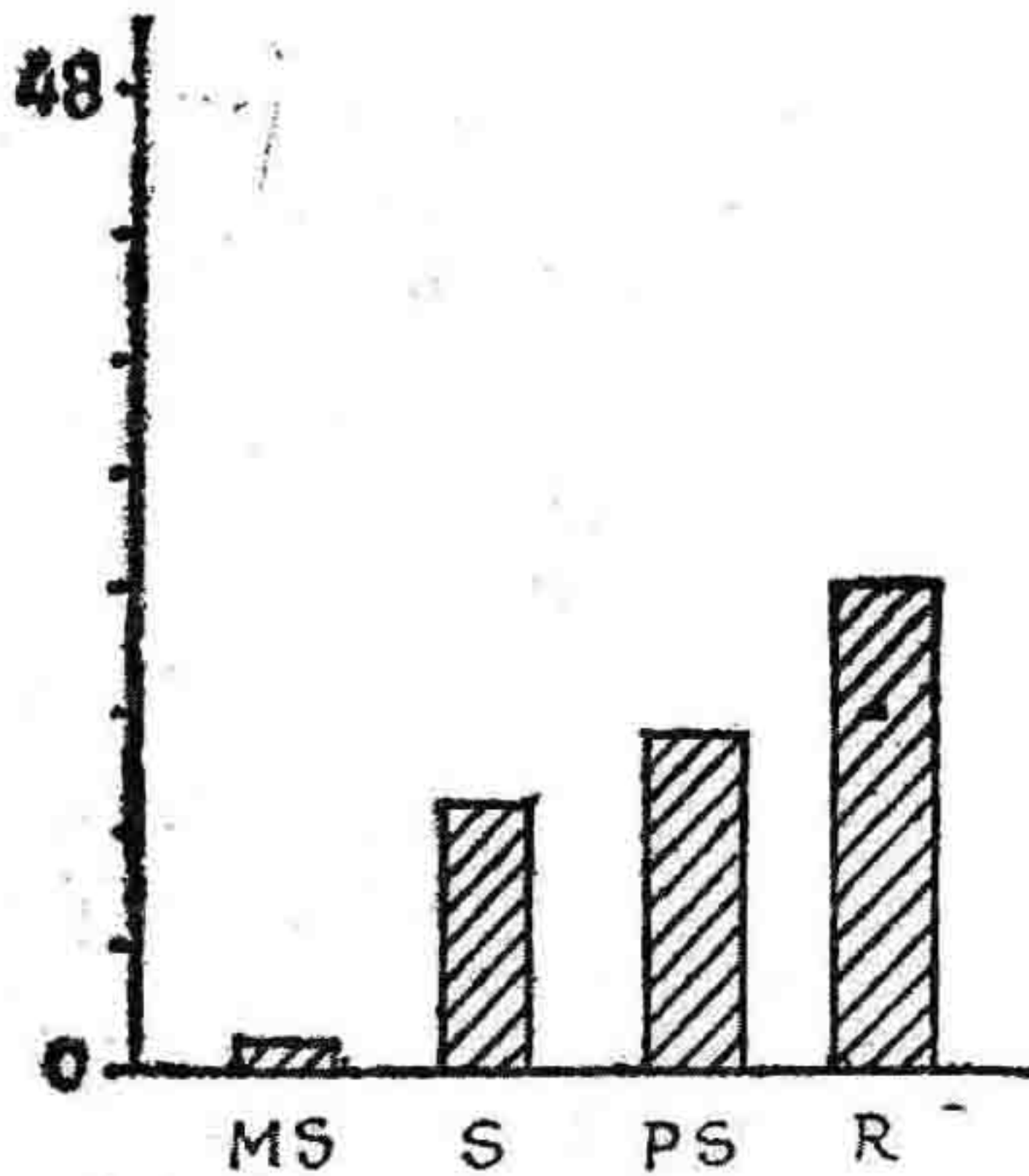
Cualquiera alteración que experimenten estos mecanismos de defensa, significará una ruptura de este equilibrio y la posibilidad de que las especies potencialmente patógenas exalten su virulencia y provoquen enfermedades infecciosas, tanto locales como de repercusión en el resto del organismo.

Como un aspecto revelador de la importancia que para la patología médica y odontológica representa la flora microbiana normal de la boca, podemos señalar entre las especies integrantes, las siguientes: estafilococos, estreptococos viridans y hemolítico, hongos y levaduras, espiroquetas y bacilos fusiformes, virus filtrables, estreptococos fecalis,

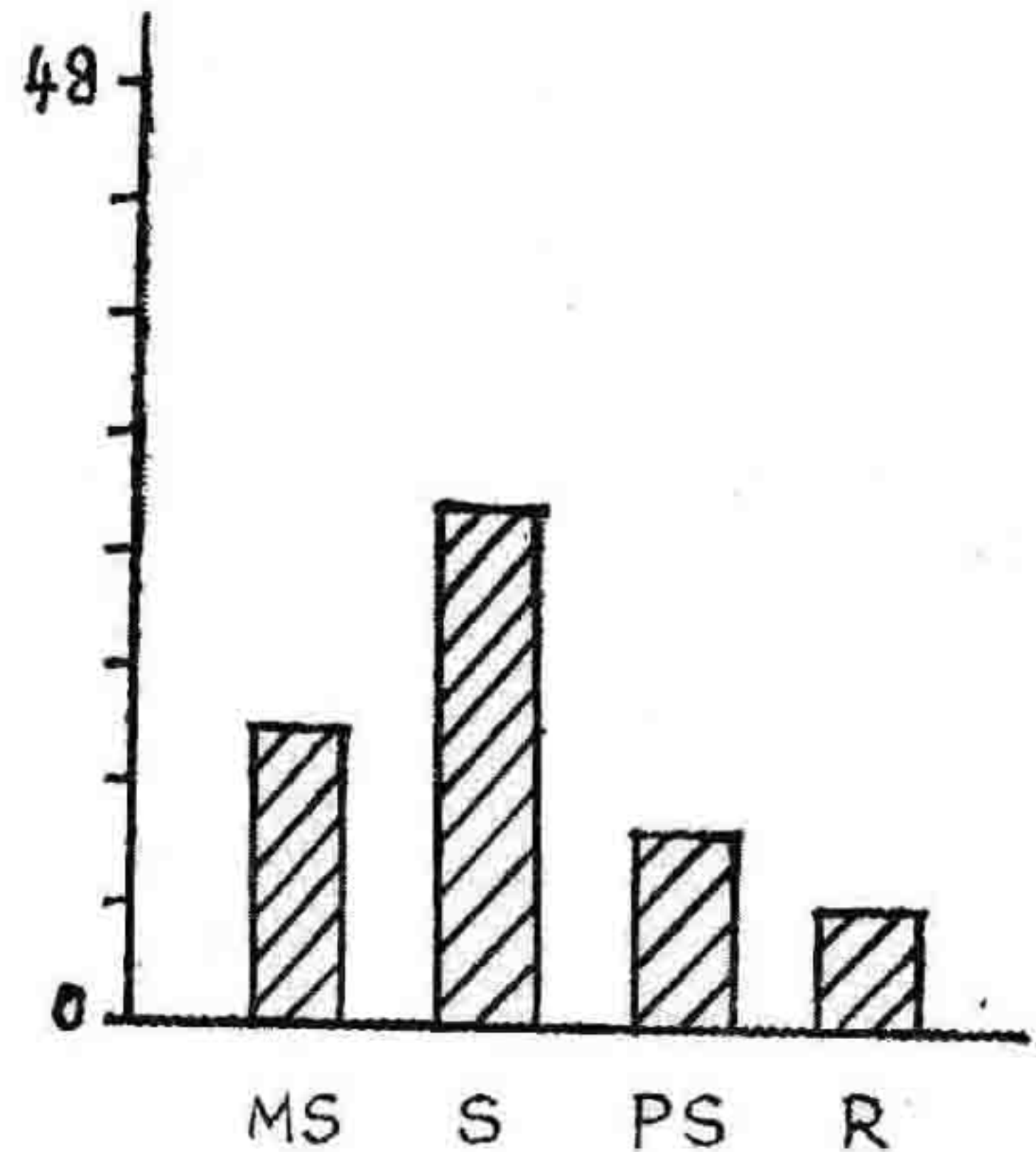
etcétera; que, con mucha frecuencia, se describen como agentes causales de enfermedades infecciosas graves y aún mortales.

En conocimiento de estos hechos, oriento a clínicos e investigadores a una búsqueda constante y permanente de elementos terapéuticos eficaces, para combatir la acción patógena de estos microbios; como igualmente a elaborar métodos de higiene bucal que permitieran prevenir el desarrollo de enfermedades.

El advenimiento de la antibioticoterapia despertó un justificado entusiasmo ante la posibilidad de contar con un elemento terapéutico relativamente inocuo para el organismo, de fácil aplicación, de amplio espectro antimicrobiano y de bajo costo. Sin embargo, este gran entusiasmo duró poco tiempo; al ir surgiendo paulatinamente numerosos problemas relacionados con los efectos secundarios de los antibióticos sobre el organismo y sobre las bacterias, lo cual hizo necesario que los esfuerzos de clínicos e investigadores se orientaron no sólo a la búsqueda de nuevos antibióticos, sino, también, a tratar de contrarrestar la acción nociva de estos efectos secundarios.



A) Tetraciclina



B) Tetraciclina-cloranfenicol.

Los problemas que se debieron afrontar decían relación con los siguientes aspectos:

1. Con la resistencia adquirida a la acción de los antibióticos, cepas y especies normalmente sensibles.

2. A la ruptura del estado de equilibrio que se producía en la flora microbiana normal del organismo, como consecuencia de la administración de antibióticos, especialmente de aquellos denominados "de amplio espectro de acción".

3. Los estados de hipersensibilidad alérgica que el organismo podría desarrollar que, en muchos casos, provocan accidentes graves y aún mortales.

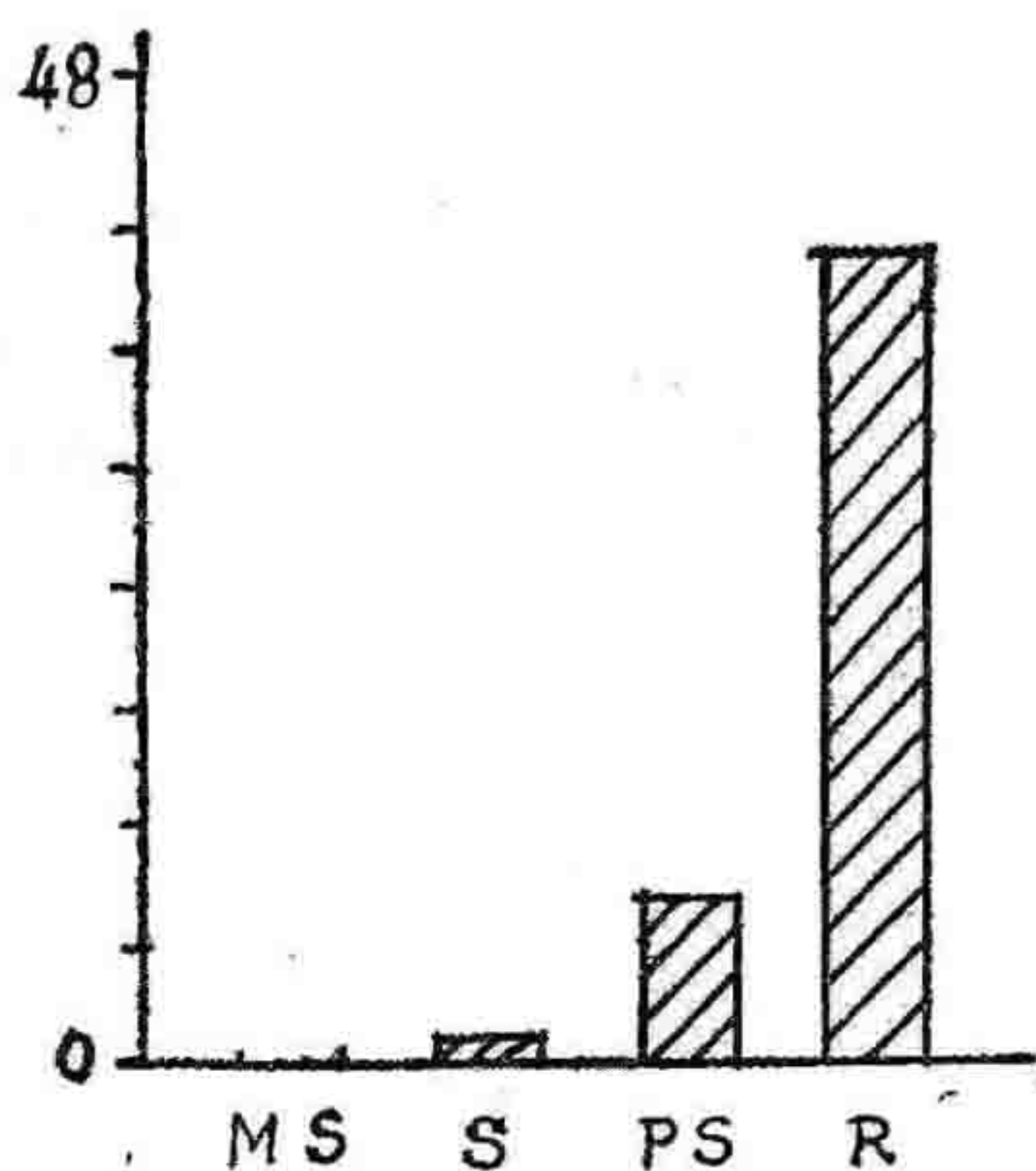
En todo el mundo se realiza actualmente una intensa labor investigadora tendiente a:

1. Determinar las causas íntimas que originan los problemas señalados.

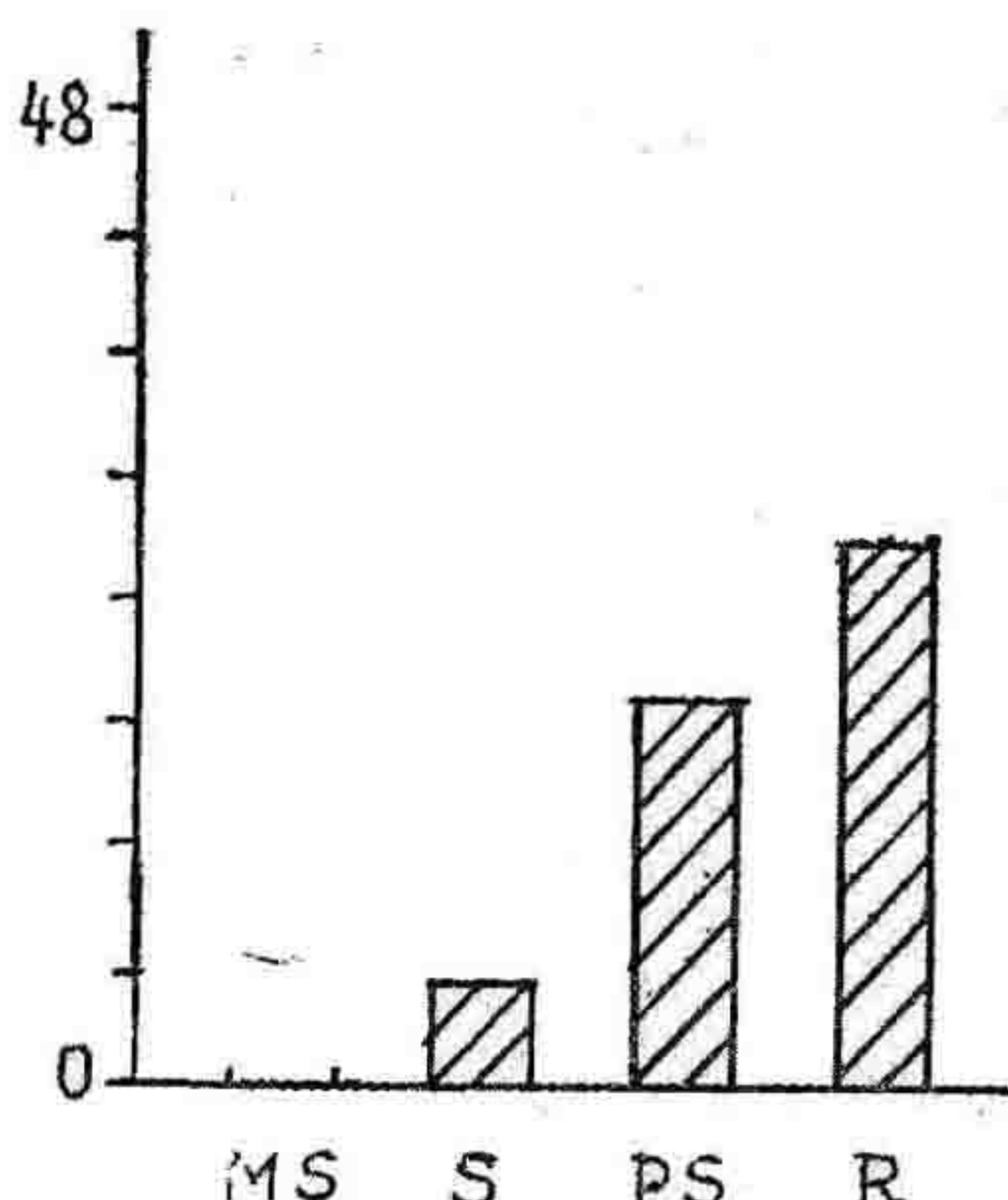
2. Buscar nuevos antibióticos que posean acción antimicrobiana contra las cepas y especies microbianas que han adquirido resistencia a una o más de estas drogas.

3. Ensayar combinaciones de antibióticos que al potenciarse reforcen y amplíen el espectro de acción de cada uno de ellos separadamente.

4. Idear técnicas de laboratorio que permitan determinar el grado de sensibilidad "in vitro" de los microbios a los antibióticos, procedimientos que constituyen una valiosa ayuda para el clínico y que demuestren, una vez más, la importancia de una labor conjunta de colaboración entre el laboratorio y la clínica.



C) Estreptomicina.



D) Penicilina G Sódica.

Estos problemas a que nos hemos referido y muchos otros de no tantag ravedad, afectan a todas las regiones del organismo y, por lo tanto, a la cavidad bucal. Sin embargo, al revisar la abundante literatura existente sobre esta materia podemos comprobar que, en general, no se ha dado la importancia debida a las situaciones que se presentan en la cavidad bucal, como consecuencia de la aplicación de antibióticos.

En la Sección de Microbiología del Instituto de Patología del Departamento de Ciencias de Valparaíso (Universidad de Chile) se está realizando un plan de investigación tendiente a aportar algunas contribuciones prácticas para la solución de estos problemas; y es así como F. Lara y E. Navarrete han comunicado en varios trabajos (2-4) la importancia y gravedad que encierra la adquisición de resistencia a los antibióticos por parte de los estafilococos patógenos de la cavidad bucal, especialmente en el ambiente hospitalario.

F. Lara y colaboradores analizaron el problema de la sensibilidad de las especies microbianas integrantes de la flora microbiana normal de la boca en la población de la Isla de Juan Fernández (5).

M. Velasco y F. Lara (6) abordaron el aspecto de la frecuencia y sensibilidad a antibióticos y otros agentes terapéuticos de las monillias de la saliva.

En el presente trabajo hemos analizado la sensibilidad "in vitro" a ocho antibióticos de las especies microbianas contenidas en la saliva, proveniente de 50 personas normales.

II. MATERIALES Y METODO DE TRABAJO

1. Las muestras de salivas provenían de individuos con su cavidad bucal normal, por lo que respecta a procesos infecciosos y que no estaban sometidos a tratamientos con antibióticos en el momento de obtener la muestra.

La muestra de saliva se obtuvo con estimulación previa y tratando de mantener el máximo de condiciones de asepsia.

2. En Placas de Petri con Agar Cerebro Corazón (Difco) se sembró en superficie 1 c. c. de saliva pura.

3. En dichas placas se probó la acción antimicrobiana "in vitro" de los siguientes antibióticos en forma de "sensi-disc" con las características que se indican.

CUADRO NUM. 1

<u>Antibióticos</u>	<u>Nombre comercial</u>	<u>Concentración</u>
Clorhidrato de Tetraciclina...	Ambramicina ...	30 microgramos.
Tetraciclina		150 mcg de Cloranfenicol.
Cloranfenicol ...	Ambrasinto... ..	108 mcg de Tetraciclina.
Estreptomicina ...	Streptomicina ...	10 mcg.
Penicilina G. Sódica	Penicilina G. Sód.	10 mcg.
Cloranfenicol	Sintomicetina ...	30 mcg.
Tetraciclina		167 mcg de Tetraciclina.
Novobiocina ...	Vulcaciclina... ..	83 mcg de Novobiocina.
Novobiocina ...	Vulcamicina... ..	30 mcg.
Eritromicina ...	Erythrocin	15 mcg. 15 mcg.

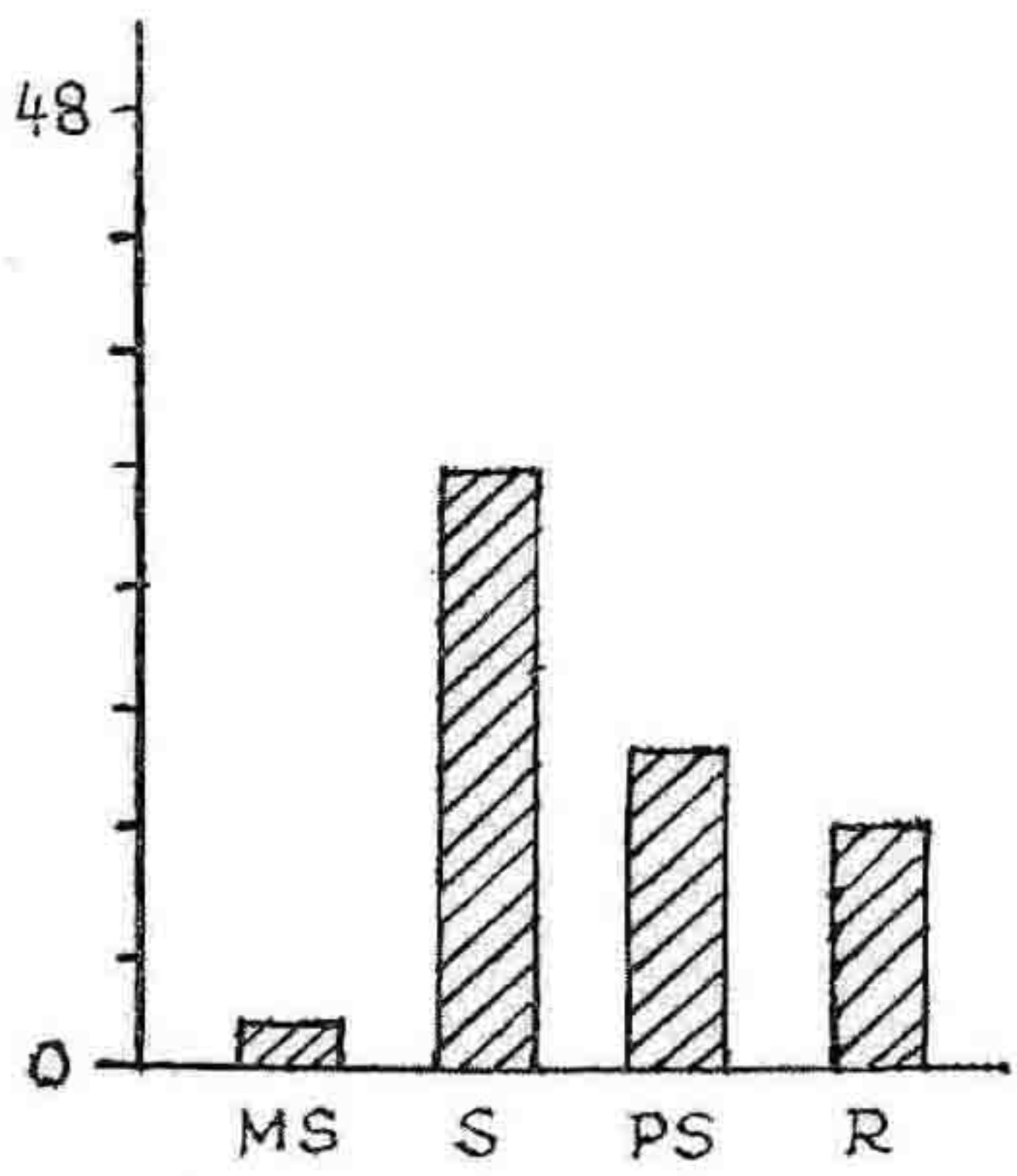
Cuadro Núm. 1.—Los "sensi-disc" de antibióticos usados, fueron proporcionados por los Laboratorios Lepetit y Laboratorios Abbott.

1-2-3-4-5-6-7: Lab. Lepetit.
8: Lab. Abbott.

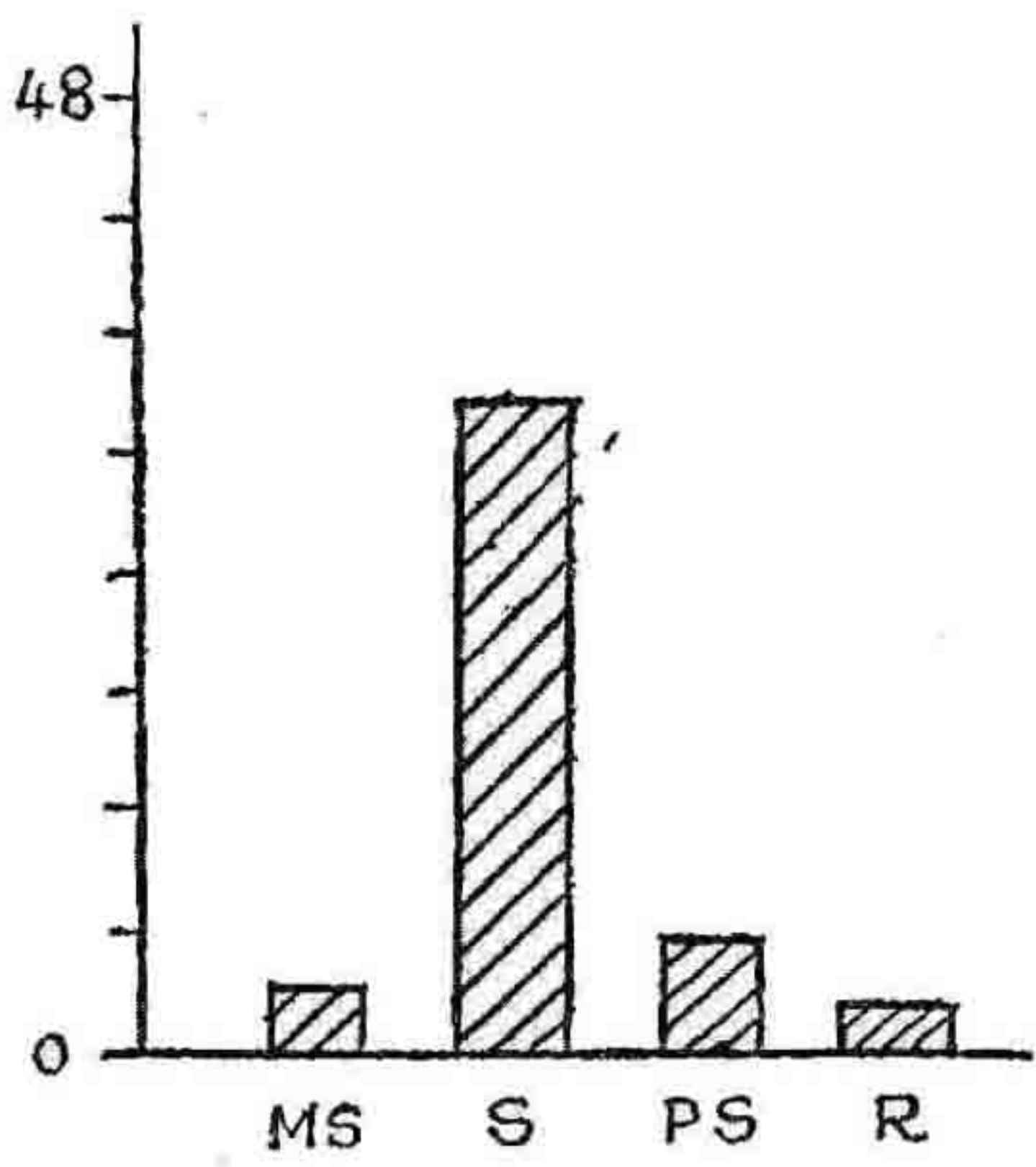
5. Observación macroscópica.

a) Esta observación consistió en determinar los resultados obtenidos en cada segmento. En aquellos segmentos en que hubo anillo de "inhibición", originado por acción del antibiótico correspondiente; se procedió a medir el diámetro del anillo. La valorización de los resultados se hizo en base a la siguiente pauta:

diámetro del anillo	interpretación
40 m/m a 31 m/m:	Muy sensible (M S)
30 m/m a 21 m/m:	Sensible (S)
20 m/m a 10 m/m:	Poco sensible (P S)
menos de 10 m/m:	Resistencia (R)



E) Cloranfenicol



E) Tetraciclina-Novobiocina

b) Observación microscópica.—Del segmento control de cada placa se tomó una muestra, con la que se hizo un frotis y una coloración de Gram. En aquellos segmentos con antibióticos en que hubo anillo de inhibición; pero dentro de ellos se presentaban colonias aisladas, se realizó también un examen microscópico con coloración de Gram. Todo este procedimiento tuvo por finalidad efectuar un estudio microscópico comparativo entre las especies desarrolladas en el segmento control y las colonias existentes dentro del anillo de inhibición en cada segmento con antibióticos, existencia que señalaba resistencia a dicho antibiótico.

III. RESULTADOS

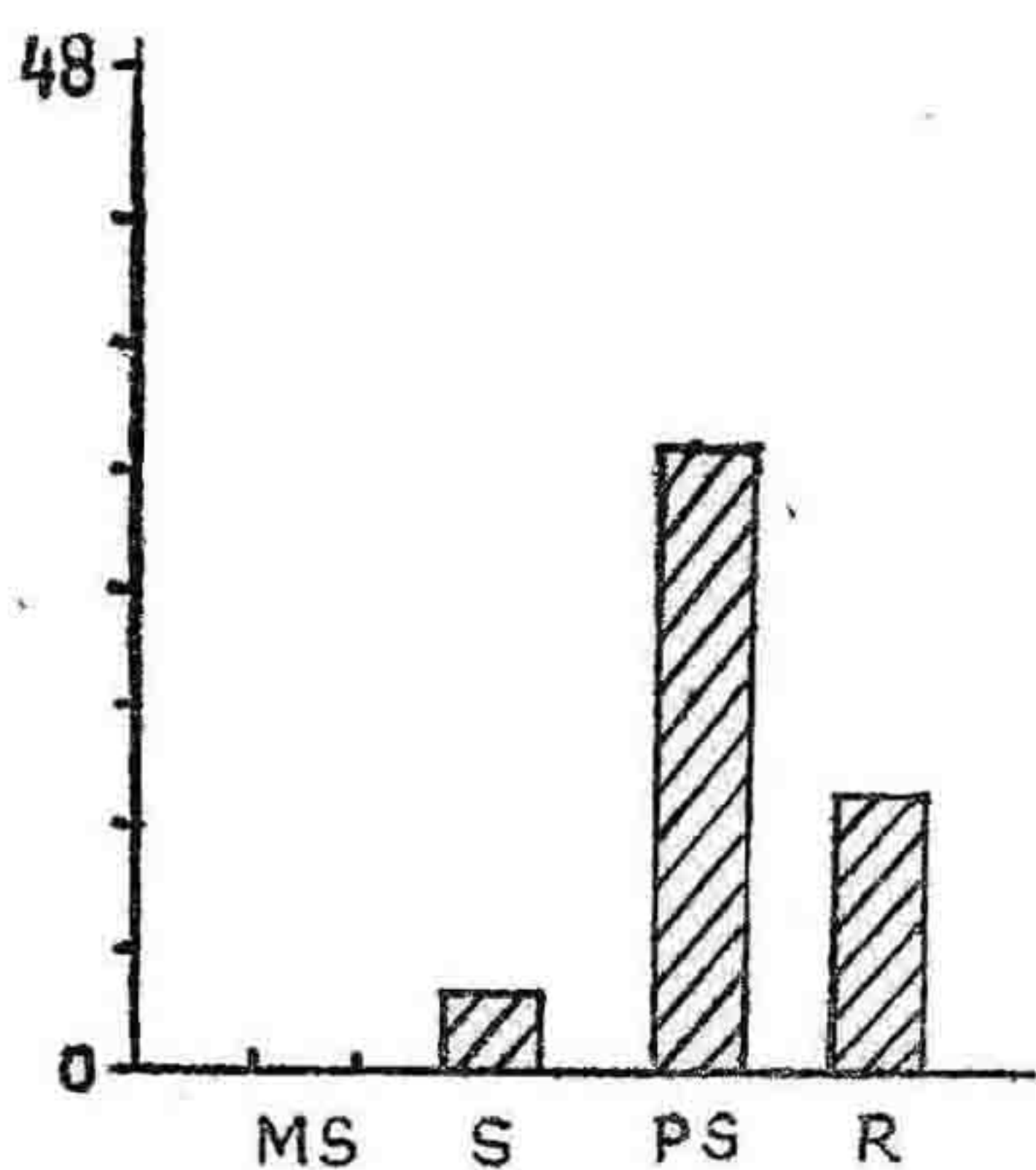
En las figuras 1 a 8 se representan en forma esquemática los resultados en cada antibiótico, los que han sido resumidos en forma de porcentaje en el cuadro núm. 9. Estos resultados se expresan tomando en consideración la observación macroscópica desarrollada en los cultivos, sin identificarles, apreciándose que la combinación

Tetraciclina-Cloranfenicol fue la más eficaz; en cambio, la Estreptomicina se reveló como la menos activa.

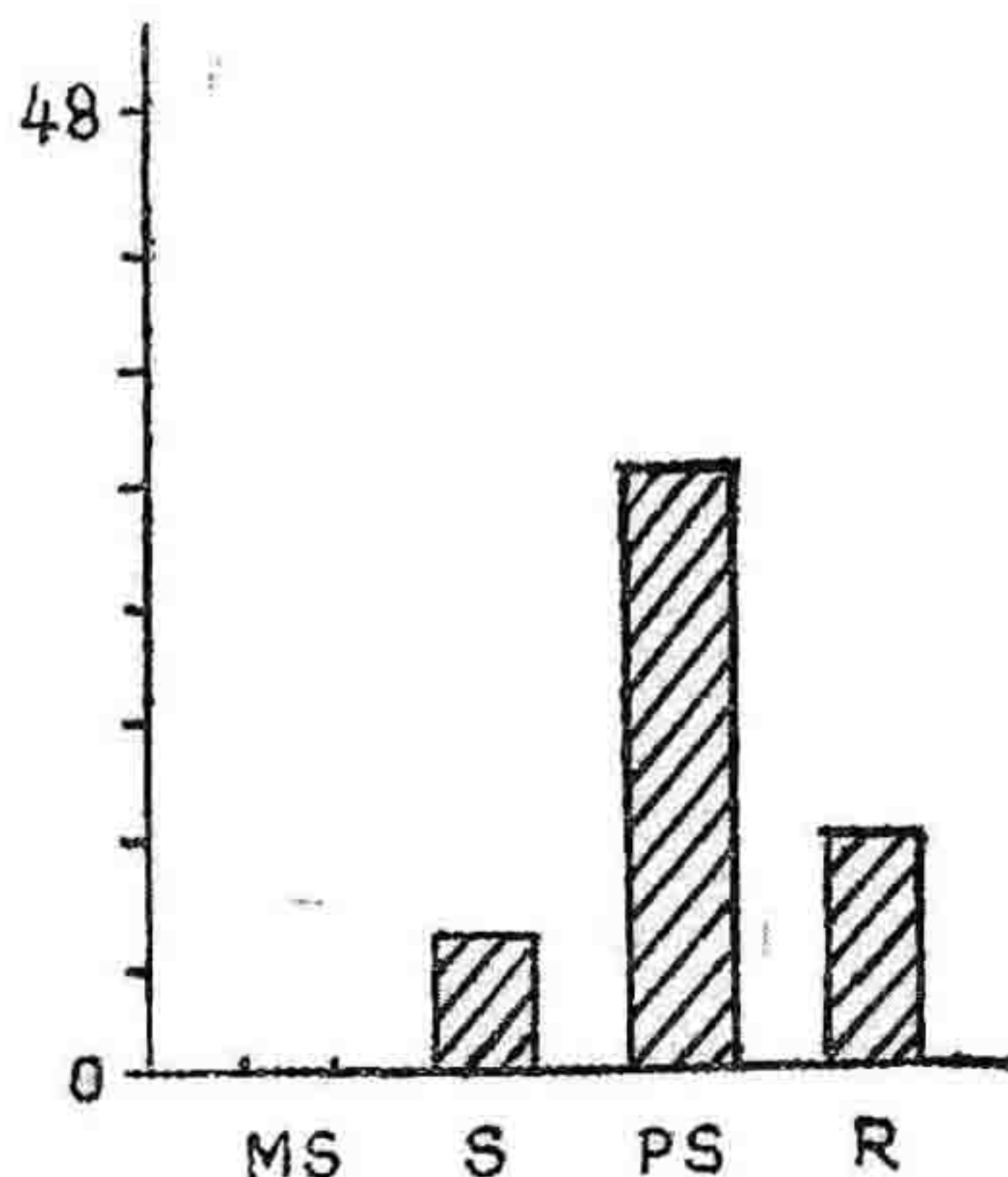
Los resultados obtenidos con respecto a la observación microscópica, desde el punto de vista del comportamiento de los gérmenes a la coloración de Gran fue la siguiente: en 25 salivas había un *equilibrio cuantitativo* entre las especies Gram (+) y Gram (—); en 12 de ellas, predominaban las especies Gram positivas y en las 13 restantes el predominio fue de especies Gram (—), como se puede apreciar en la figura núm. 10.

IV. COMPORTAMIENTOS

Analizando los resultados obtenidos “in vitro”, desde el punto de vista de la “utilidad terapéutica” de los antibióticos ensayados, consideramos convenientemente clasificarlos en dos grupos: uno integrado por aquellos antibióticos ante los cuales las especies microbianas de las aliva normale estudiada se mostraron *muy sensibles* y *sensibles*, los



G) Novobiocina.



H) Eritromicina.

cuales serían de utilidad terapéutica; y otro en que se incluyeron aquellos antibióticos ante los cuales los microbios fueron *poco sensibles* y *resistentes*, y que, por lo tanto, carecerían de utilidad terapéutica.

De acuerdo con esta clasificación se confeccionó la figura núm. 11, en la cual se puede apreciar que la mezcla Tetraciclina-Novobiocina sería, por el momento, la más eficaz, siguiéndole la mezcla Tetraciclina-Cloranfenicol; en cambio, la Estreptomicina, la Penicilina y la Novobiocina se mostraron poco eficientes para inhibir el desarrollo microbiano “in vitro”.

Cabe destacar, además, que en ambos tipos de valorizaciones, las mezclas de antibióticos se mostraron notoriamente superior en su acción antimicrobiana, que en cada uno de ellos por separados, es decir, la “potenciación” de antibióticos mostró una acción muy su-

perior a su poder que alcanzan estos medicamentos en forma individual.

Con respecto al equilibrio cuantitativo que se observó en las especies microbianas con la coloración de Gram se pudo comprobar que, efectivamente, la flora existente en la cavidad bucal que mantienen un estado de equilibrio biológico, también lo cumple en el *sentido cuantitativo*, equilibrio éste que se mantiene entre diferentes especies microbianas, mientras no sea interrumpido por algunos factores que lo regulan, o por acción de sustancias que en determinadas circunstancias puedan llegar a la cavidad bucal, como pueden ser los *antibióticos* y ello lo evidencian los trabajos realizados por Mary Crowley (3).

Si se considera la ruptura de este equilibrio cuantitativo por acción de los antibióticos al ser administrado por vía oral, podemos observar que existen muchas posibilidades que al romperse, sea en favor de los gérmenes Gram (—), los que al quedar libres de una acción reguladora, serían capaces de determinar muchos trastornos. Así, si consideramos

	1	2	3	4	5	6	7	8
M S	4 %	8 %	0 %	0 %	2 %	26 %	0 %	0 %
S	50 %	74 %	10 %	12 %	28 %	50 %	2 %	6 %
P S	26 %	14 %	64 %	64 %	30 %	18 %	16 %	40 %
R	20 %	4 %	26 %	24 %	40 %	6 %	82 %	54 %

Fig. 9.—Registro esquemático de los resultados obtenidos para cada antibiótico, expresados en tanto por ciento (%).

que en la boca normalmente existen al estado saprófito, gérmenes potencialmente patógenos como: *Escherichia coli*, enterococo, *Pseudomonas aeruginosa*, por nombrar algunos; podemos darnos cuenta de la gravedad que reviste al pasar a la vía hemática y registrar enfermedades intestinales (gastroenteritis, apendicitis), lesiones de las vías biliares, de los órganos genitales (fiebres puerperales) o procesos supurados en las vías urinarias (10), como también septicemias que pueden llegar a ser mortales (11). De estas posibilidades existen muchos hechos concretos sobre informes clínicos que han evidenciado estas complicaciones.

V. CONCLUSIONES

1. De los gérmenes contenidos en 50 muestras de salivas normales sobre las cuales se probó la acción "in vitro" de ocho antibióticos, por el método de difusión, el porcentaje más alto de *resistencia* se obtuvo con la Estreptomicina (82 por 100) y luego la Penicilina (54 por 100).

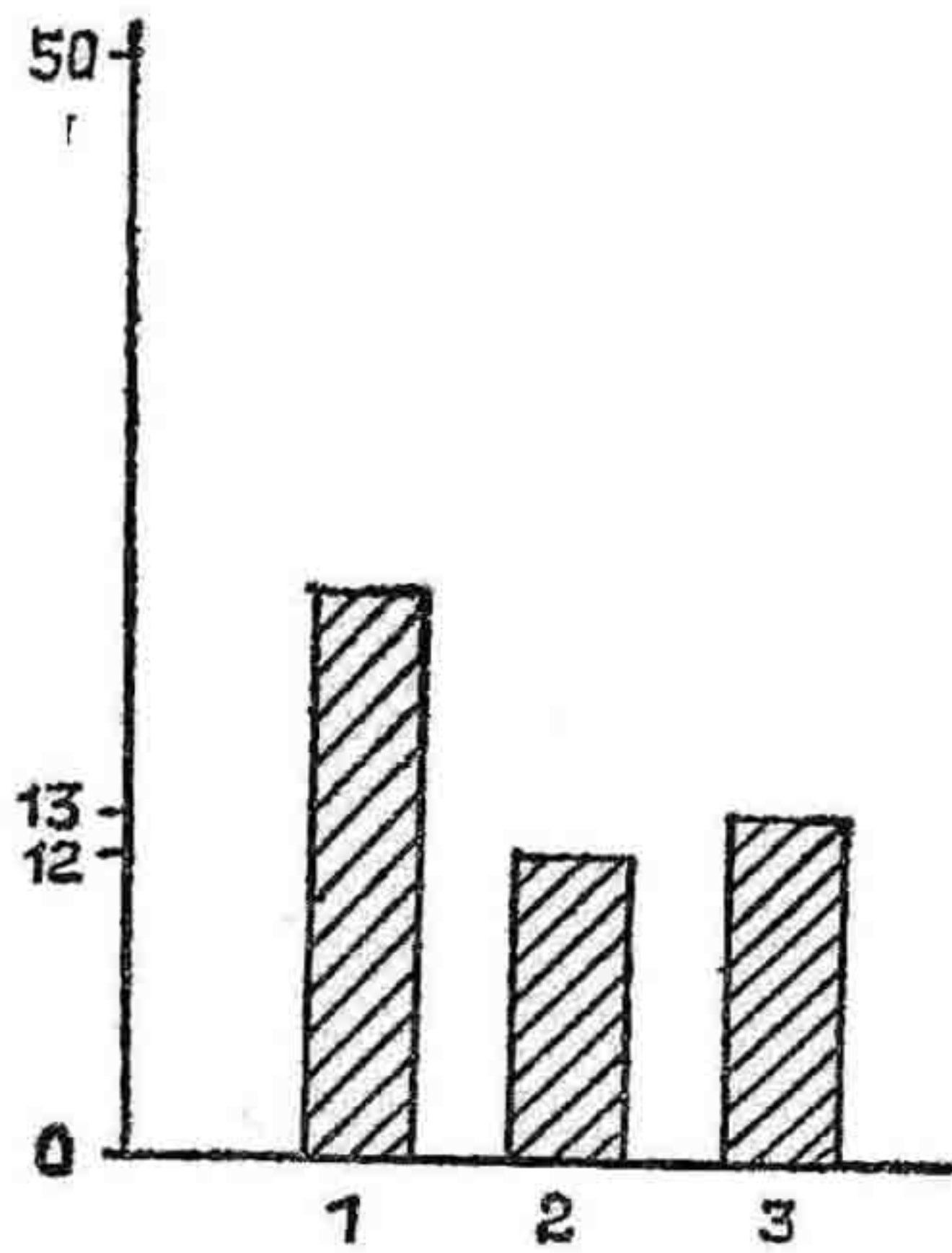
2. La mayor efectividad la demostró la mezcla de Tetraciclina más Cloranfenicol (26 por 100).

3. Desde el punto de vista de *utilidad terapéutica* la mayor eficacia la demostró la mezcla Tetraciclina-Novobiocina (82 por 100) y luego la mezcla Tetraciclina-Cloranfenicol.

4. Los antibióticos menos activos desde el punto de vista de utilidad terapéutica serían:
- a) Estreptomicina (98 por 100).
 - b) Penicilina (94 por 100).
 - c) Eritromicina (88 por 100).

Fig. núm. 10

- 1.—Equilibrio entre flora Gram + y Gram —
- 2.—Predominia flora Gram +
- 3.—Predominio flora Gram —



Antibió- ticos	1	2	3	4	5	6	7	8
Grupo I	54 %	82 %	10 %	12 %	30 %	76 %	2 %	6 %
Grupo II	46 %	18 %	90 %	88 %	70 %	24 %	98 %	94 %

Fig. 11.—Clasificación de los antibióticos en dos grupos, de acuerdo a la sensibilidad de las especies microbianas, en la que se puede apreciar la mayor eficacia de la mezcla tetraciclina-novobiocina.

1. Cloramfenicol.

2. Tetraciclina + novobiocina

3. Novobiocina.

4. Erotromicina.
5. Tetraciclina.

6. Tetraciclina + cloranfenicol.

7. Estreptomicina.

8. Penicilina G. Sódica.

5. Con respecto al equilibrio biológico mantenido en forma cualitativa y cuantitativa de los gérmenes que habitan en la cavidad bucal, es necesario considerarlo y tomar en cuenta su “ruptura”, en que si es en favor de los gérmenes Gram (—), las posibilidades de complicaciones comentadas existen; ahora, si pensamos que la cavidad bucal es una región que está frecuentemente sometida a intervenciones quirúrgicas, especialmente *exodoncias*, dejan una vía de entrada para los gérmenes hacia el organismo, y porque es una de las vías de mayor

uso para administrar antibióticos, como también de eliminación a través de la saliva.

BIBLIOGRAFIA

- Bergey: "Manual of Determinative Bacteriologie", 7.^a edic., 1957. *USA*.
- Lara, F. y Navarrete, E.: "Sensibilidad a o antibióticos de 50 cepas de Estafilococos de diversas procedencias". 1964. *CHILE*.
- Crowley Mary, C.: "The Microbiology of the Oral Cavity". Dental Clinics of North America, 1958. *USA*.
- Lara, F. y Navarrete, E.: "Frecuencia de Estafilococos patógenos en salivas normales". 1964. *CHILE*.
- Lara, F. y Colb.: "Investigaciones sobre aspectos clínicos y bacteriológicos de los habitantes de la isla de Juan Fernández (Chile), 1965. *CHILE*.
- Lara, F. y Velasco, M.: "Acción antimicrobiana "in vitro" de cuatro agentes quimioterapéuticos sobre 43 cepas de Monillias aisladas de salivas". 1966. *CHILE*.
- Morales, J. y Miranda, H.: "Importancia de la determinación del espectro antibióticos frente al problema de la resistencia bacteriana". *Odontología*. Volumen 1, núm. 1, noviembre 1964. *PERU*.
- Checcacci, L.: "Una investigación más sobre las asociaciones entre antibióticos". *Gaceta Sanitaria*, núm. 5-5 de 1957. Milán *ITALIA*.
- Reber, H.: "La resistencia bacteriana frente a los antibióticos". *Panorama Médico*. Edit. Sandoz, S. A. Basilea *SUIZA*.
- Zapatero, E.: "Microbiología Médica". Aldus, S. A. Artes Gráficas. Santander, 1962. *ESPAÑA*.
- América Clínica*. Revista mensual de Diagnóstico y terapéutica: "Septicemia por Bacilo Piociánico". Vol. XLVII. Núm. 6, junio 1963. N. York *USA*.
- Dávila, E. y Vera, A.: "Acción de la 5-7 dicloro hidroxiquinaldina in vitro sobre Monillias de la cavidad bucal. 1965. *CHILE*.

* * *

EL TRABAJO CIENTIFICO CARECE DE NACIONALIDAD

El profesor E. S. Williams, director del Instituto de Medicina Nuclear del Middlesex Hospital de Londres, ha hecho unas de claraciones en España.

Después de precisar que la Medicina Nuclear se halla en el umbral de una serie de aplicaciones todavía difíciles de precisar, y que en la lucha contra el cáncer se obtienen resultados satisfactorios cuando se aplica en los primeros síntomas, es preguntado:

—¿Han logrado los científicos ingleses ocupar un lugar destacado en la Medicina Nuclear?

—El trabajo científico (contesta el profesor) se lleva a cabo en equipo, y no hay demasiada ambición por ocupar lugares destacados dentro del mundo de la ciencia. Todos los países aportan algo, y entre todos lo hacemos todo en la búsqueda de nuevas aplicaciones. La labor científica carece de nacionalidad.