

**RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *Streptococcus spp.* AISLADOS EN CAVIDAD ORAL DE
INDIVIDUOS CON USO PROLONGADO DE ANTIBIÓTICO**

Presentado por:

DIANA MARCELA MENDOZA

YADINSA QUITIAN VARGAS

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS PROGRAMA
DE BACTERIOLOGÍA BOGOTÁ D.C**

2014

**RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *Streptococcus spp.* AISLADOS EN CAVIDAD ORAL DE
INDIVIDUOS CON USO PROLONGADO DE ANTIBIÓTICOS**

Presentado por:

DIANA MARCELA MENDOZA

YADINSA QUITIAN VARGAS



Director: Hugo Diez Ortega, Ph.D.

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS PROGRAMA
DE BACTERIOLOGÍA BOGOTA D.C**

2014

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución No 13 de Julio de 1946.

“La universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia.”

**RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *Streptococcus spp* AISLADOS EN CAVIDAD ORAL DE
INDIVIDUOS CON USO PROLONGADO DE ANTIBIÓTICOS**

Presentado por:

DIANA MARCELA MENDOZA N.

YADINSA QUITIAN VARGAS



Director: Hugo Diez Ortega, Ph.D.



Jurado: Fredy Gamboa

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS PROGRAMA
DE BACTERIOLOGÍA BOGOTA D.C
PERÍODO 1430**

AGRADECIMIENTOS

A Dios en primera instancia por habernos dado la vida y por permitirnos vivir este presente que se nos está dando en estos momentos.

Nuestro Director de Trabajo de Grado , Dr. Hugo Diez por darnos la oportunidad de realizar este proyecto, por las enseñanzas recibidas, la paciencia compromiso y dedicación que tuvo durante este proceso, por creer en nosotras y brindarnos su apoyo y conocimientos que nos permitieron crecer como personas y como profesionales.

A nuestros hijos por la comprensión, ya que son nuestra razón de ser y nuestro gran motivo para seguir adelante en una lucha constante por darles lo mejor de nosotras cada día.

A Nuestras Familias por estar presentes en este momento de nuestras vidas y vernos crecer llegando a este gran logro de nuestra carrera, por ayudarnos siempre a salir adelante sin importar las dificultades.

1. RESUMEN

- a. **Introducción:** los cocos Gram positivos del género *Streptococcus* son un heterogéneo grupo de bacterias que han sido asociados a diferentes infecciones no odontógenas de la cavidad oral como son caries, pulpitis, absceso periapical, gingivitis, periodontitis y pericoronaritis considerándose que al menos en un 10% requieren de tratamiento antibiótico siendo Amoxicilina, Amoxicilina/clavulánico y Clindamicina usados como primera opción tanto a nivel de prevención como infección. Diferentes estudios han evidenciado que varias especies de *Streptococcus viridans* presentan una prevalencia creciente de la resistencia frente a antimicrobianos como Amoxicilina y clindamicina (10%-15%) y mácrolidos (35%-70%).
- b. **Justificación:** los antibióticos a nivel odontológico se formulan de manera empírica basándose en criterios epidemiológicos y en función del cuadro clínico pero sin conocimiento real del microorganismo y su resistencia. El uso prolongado de antibióticos de amplio espectro en individuos puede inducir en bacterias comensales de la cavidad oral la resistencia a Amoxicilina y Clindamicina, antibióticos usados a nivel odontológico como primera opción tanto en prevención como infección. Para implementar programas de salud oral que permitan prevenir la aparición de cepas resistentes y formular tratamientos que eviten futuros riesgos y disminuyan las tasas de morbilidad es necesario conocer la frecuencia de estos microorganismos y el patrón de resistencia antibiótica que presentan.
- c. **Objetivo:** establecer la frecuencia y perfil de resistencia antibiótica de las diferentes especies de *Streptococcus* aislados en cavidad oral en un grupo de individuos que reciben tratamiento prolongado de antibióticos.
- d. **Resultados:** de los 50 cultivos realizados, en el 86% (43 cultivos) de ellos fueron aislados microorganismos del género *Streptococcus*. De los 43 cultivos sugestivos para *Streptococcus* se logró obtener un total de 106 aislamientos de *Streptococcus spp.* de ellas el 2.8% evidencio resistencia a Amoxicilina 4/2 µg presentándose en dos cepas de *S.mitis* y 1 cepa de *S.mutans*.

1. INTRODUCCION

La cavidad oral está compuesta por un complejo ecosistema microbiano donde cohabitan aproximadamente entre 500 y 700 especies, principalmente bacterias comensales que colonizan las mucosas y dientes siendo a nivel odontológico el grupo de mayor relevancia los *Streptococcus* y dentro de estos la especie *mutans* dado que han sido asociados a diferentes infecciones de la cavidad oral (1). Dichas infecciones pueden clasificarse en odontógenas si afectan estructuras que forman el diente y el periodonto o en no odontógenas si afectan a mucosas o estructuras extradentales como son glándulas salivares y lengua entre otros (2). Las infecciones de impacto para el Odontólogo son las odontógenas que se caracterizan por ser poli microbianas y comprende diversos cuadros clínicos como caries, pulpitis, absceso periapical, gingivitis, periodontitis y pericoronaritis que se caracterizan por ser infecciones focales, autolimitadas cuyo tratamiento requiere la combinación de procedimientos odontológicos y quirúrgicos, y rara vez requieren de tratamiento antibiótico salvo que la infección disemine a los tejidos profundos o por vía linfática/hematógena alcance órganos lejanos causando procesos de mayor gravedad donde se considera que hasta un 10% de ellas requiere antibioticoterapia (2). En estos casos la infección odontogénica causa un elevado consumo de antibiótico y la elección del mismo desafortunadamente es empírica basándose principalmente en criterios clínicos y epidemiológicos. El uso indiscriminado de antibióticos trae como consecuencia la selección natural de bacterias potencialmente resistentes a antibióticos tanto en la flora comensal del paciente como en la flora patógena conllevando a refractariedad en los tratamientos de uso diario como son Amoxicilina, Amoxicilina- clavulánico y Clindamicina (3). Por ello es importante realizar un diagnóstico lo más preciso posible que incluya la identificación microbiológica del microorganismos con su perfil de resistencia antibiótica.

2. PROBLEMA Y JUSTIFICACION

El tratamiento de las infecciones a nivel de la cavidad bucal debe cumplir tres objetivos básicos como son la inhibición del crecimiento del agente etiológico de la infección, mantener el equilibrio ecológico de la cavidad bucal y minimizar la aparición de resistencias en los microorganismos considerados comensales. Desafortunadamente estos objetivos no se cumplen totalmente debido al uso empírico de los antibióticos, la aplicación indiscriminada de antibióticos de amplio espectro y el desconocimiento sobre tratamientos antibióticos previos que puede tener el paciente antes de un proceso odontológico lo cual puede implicar que ya sean portadores de cepas resistentes sin saberlo (4). Una de estas variables que estimula la generación de mutantes resistentes a determinado antibiótico son los pacientes hospitalizados por diferentes patologías infecciosas que al recibir tratamientos con cefalosporinas de segunda y tercera generación o betalactámicos de amplio espectro pueden estar induciendo resistencia a bacterias comensales como *S.mutans* donde ya se empiezan a observar casos de resistencia a Amoxicilina y Clindamicina, antibióticos usados como primera opción tanto a nivel de prevención como infección a nivel odontológico (5). Por tal motivo, conocer la resistencia a antibióticos que presenta la flora comensal de la cavidad oral, es el primer paso para implementar programas de salud oral que permitan prevenir la aparición de cepas resistentes y formular tratamientos que eviten futuros riesgos y disminuyan las tasas de morbimortalidad. El aumento de portadores de cepas resistentes puede convertirse en un problema de salud pública. Poder detectar posibles portadores de cepas resistentes antes de la consulta odontológica se convierte en una alternativa adicional para controlar las tasas de infección y el conocer el perfil de resistencia de los antibióticos permite al odontólogo mejorar los protocolos y guías de tratamiento dentro de su trabajo (6).

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué tan frecuente es la presencia de cepas de *Streptococcus spp.* amoxicilino resistentes en la flora comensal de individuos que reciben tratamiento antibiótico prolongado?

3. MARCO REFERENCIAL

3.1 TAXONOMIA Y GENERALIDADES

Los miembros del género *Streptococcus* se caracterizan por ser anaerobios facultativos, son catalasa y oxidasa negativos, formadores de cadenas de cocos gram positivos y su crecimiento en la mayoría se ve estimulado por el aumento de CO₂, se consideran homofermentadores debido a que el único producto de fermentación de la glucosa es el ácido láctico sin que se dé una producción de gas, donde el grupo de *Streptococcus viridans* se caracterizan por presentar hemólisis alfa o gamma en agar sangre son el grupo de microorganismos mayormente aislados en cavidad oral y se considera que el de mayor importancia es *S.mutans* (7). *S.mutans* se encuentra en la microbiota bucal presentando forma de coco y va a crecer en cadenas o en parejas, no móvil, no formador de esporas reaccionando positivamente frente a la coloración de Gram (8,9). Es catalasa negativo, productor de ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético y ácido fórmico y fermentador de glucosa, lactosa, raffinosa, manitol (10). Inicialmente integraba una única especie dentro de la cual se encuentran ocho serotipos designados de la a –h, debido a la especificidad serológica que estos presentan frente a los antígenos de la pared celular, designando más adelante los serotipos (c, e y f) a la especie *S.mutans* respectivamente (7). Se identificó el serotipo k, el cual se ha relacionado con la endocarditis bacteriana subaguda, tienen ausencia de cápsula, polisacáridos C (8).

3.2 PATOGÉNESIS Y VIRULENCIA

S.mutans es el principal microorganismo asociado con la aparición frecuente de lesiones cariosas, desempeñando un papel fundamental en el desarrollo y posterior infección llevando a la desmineralización del diente (11). La caries dental es considerada como un proceso patológico y a su vez transmisible que va a dar lugar a la destrucción del esmalte dental por la capacidad de *S.mutans* para producir ácido creando así un desequilibrio (8). Dentro de sus propiedades de virulencia se relacionan la capacidad de metabolizar ciertos azúcares produciendo cantidades de ácido láctico y sobreviviendo en ambientes ácidos que ellos mismos generan; tienen la capacidad de adhesión al esmalte dental, que va a estar dada por la síntesis de glucanos y fructanos por medio de enzimas como la glucosiltransferasa (GTF) y por proteínas de superficie que se unen a receptores específicos (10). La caries y la periodontitis se dan por un desequilibrio que se da en las poblaciones de bacterias en este caso el principal microorganismo implicado *S.mutans*, ya

que van a dar lugar a biopelículas que se forman naturalmente con la finalidad de mantener un estado normal en la cavidad oral que se presenta como el hábitat natural para *S.mutans* cuando se presenta un tropismo por la biopelícula dental es debido a su capacidad de sintetizar glucanos, fijar compuestos y la facilidad de adaptarse a su aciduricidad (8,10).

3.3 TRATAMIENTO Y RESISTENCIA

El *S.mutans* es uno de los agentes causales de la caries y el mejor tratamiento para esta es la eliminación mecánica cuando hay poco compromiso del esmalte y la dentina, cuando hay afectación de la pulpa dental se realiza tratamiento de conductos o exodoncia (12). Cuando se realizan procedimientos odontológicos invasivos como: anestesia local intraligamentaria, conductos, raspados y alisado radicular, extracciones dentales, entre otras, pueden ser riesgo de infección, las intervenciones que requieren manipulación de tejido oral puede causar infección sistémica de gravedad como la Endocarditis Infecciosa (12). Al realizar estos procedimientos en pacientes considerados de riesgo, que son aquellos que presenten Artritis Reumatoide, Lupus Eritematoso Sistémico, inmunosuprimidos, riesgo de endocarditis, diabetes, mal nutrición, hemofilia(12), en pacientes cardíacos o con enfermedades, quimioterapia renales(13), requieren de una profilaxis y los antibióticos de elección son los betalactámicos (amoxicilina y amoxicilina con ácido clavulánico, y las penicilinas naturales, fenoximetilpenicilina –penicilina V- y bencilpenicilina –penicilina G benzatínica), en pacientes alérgicos a los betalactámicos, los fármacos de elección para la terapia antibiótica son los macrólidos, azitromicina y claritromicina, lincosamidas, clindamicina, tetraciclinas, doxiciclina, fluoroquinolonas, moxifloxacino, y quinolonas, ciprofloxacina (12). Los antibióticos prescritos con frecuencia por los dentistas son amoxicilina, penicilina y metronidazol (13). La profilaxis antibiótica se debe realizar en pacientes de riesgo de infección y en pacientes con signos de afectación sistémica, como extraoral, el cuello o las vías respiratorias intraorales, hinchazón o la fiebre se recomienda el uso de antibiótico (13). Las bacterias pueden generar resistencia a los beta-lactámicos de varias formas una es generando interferencia con la síntesis de la pared celular causando una alteración de las enzimas diana (PBP_s) esta es fundamental en la formación de la pared bacteriana, e impide la fijación del antibiótico; otra forma es la modificación de la membrana externa; y de mayor relevancia la producción de enzimas que inactivan los betalactámicos, por la betalactamasa plasmídica o cromosómica (13). Los plásmidos se pueden pasar rápidamente a partir de una cepa del

microorganismo a otro e incluso de una especie a otra por transferencia genética (conjugación, transformación y transducción) (13). Un único plásmido puede llevar genes que codifican la resistencia a un buen número de clases diferentes de antibióticos (13). Las cepas salvajes de *Streptococcus* entre ellas *S.mutans* normalmente son sensibles a betalactámicos, sin embargo hay reportes de la resistencia que presentan las cepas en general del grupo *viridans*, mostrando resistencia antibiótica variable debido principalmente al consumo empírico de antibióticos situación muy común en el área odontológica (2). Estudios representativos del área muestran que el grupo *viridans* puede presentar resistencia a penicilina en un 10-23% y a Amoxicilina en un 13%, resistencia que no solo disminuye la efectividad práctica de un tratamiento odontogénico sino que puede generar un impacto ecológico negativo sobre la microbiota oral humana y repercutir en un aumento del costo sanitario (17). En Colombia no se conoce la frecuencia de cepas de *Streptococcus* resistentes a Amoxicilina circulantes en la comunidad y con el fin de realizar una aproximación al problema en este trabajo se buscará detectar la presencia de dichas cepas en un grupo de individuos cuyo contacto con los antibióticos puede inducir la resistencia en las cepas.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

- 4.1.1. Establecer la frecuencia y perfil de resistencia antibiótica de las diferentes especies de *Streptococcus* aislados en cavidad oral en un grupo de individuos que reciben tratamiento prolongado de antibióticos.

4.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

- 4.2.1. Identificar bioquímicamente *Streptococcus* en cavidad oral en un grupo de individuos que reciben tratamiento prolongado de antibióticos.
- 4.2.2. Describir el perfil de resistencia presentado por las cepas de *Streptococcus* aislados en estos pacientes.
- 4.2.3. Determinar la frecuencia de *Streptococcus amoxicilino resistentes* dentro de los aislamientos realizados en cavidad oral en un grupo de individuos que reciben tratamiento prolongado de antibióticos.

5. MATERIALES Y METODOS:

- 5.1. *Población estudio:* 50 pacientes internados en los Hospitales Central de la Policía Nacional (HPN), Universitario Mayor Mederi (UMU) y Maissen ESE de la ciudad de Bogotá, durante el período Enero- Junio 2014.
- 5.2. *Criterios de inclusión:* en el estudio se incluyeron pacientes que hayan firmado el consentimiento informado que fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de odontología y con historia de terapia antibiótica por más de 3 semanas.
- 5.3. *Criterios de exclusión:* pacientes fumadores, pacientes con menos de 4 dientes en boca, pacientes ASA III y ASA IV, pacientes con riesgo cardiaco y que el tratamiento odontológico fuera de carácter no invasivos.
- 5.4. *Muestra:* a cada paciente se le tomó una muestra de mucosa por técnica de barrido con hisopo siguiendo los lineamientos establecidos por el manual de tomas de muestras microbiológicas de la secretaría distrital de salud, y de acuerdo al protocolo institucional establecido en la clínica (14). Dado que este trabajo estuvo enmarcado dentro de un macroproyecto, las muestras se tomaron en colaboración con los residentes de patología oral de la Facultad de Odontología de la PUJ.
- 5.5. *Transporte:* siguiendo las indicaciones establecidas por las normas de bioseguridad y preservación de la secretaría distrital de salud para toma y transporte de muestras, estas se recolectaron en medio de transporte enriquecido para *Staphylococcus/Streptococcus* de cavidad oral (BHI con 30 % de glicerol y suplementado con oxacilina) y tubo adicional de tioglicolato prereducido, para su posterior embalaje y transporte al laboratorio de bacteriología especializada de la Universidad Javeriana en un período de tiempo inferior al límite crítico de 2 horas (15).
- 5.6. *Identificación microbiológica:* para el cumplimiento del primer objetivo se identificaron las bacterias del género *Streptococcus* a partir de las muestras sembradas en el medio preenriquecido y posterior subcultivo en medio cromoagar y Agar sangre base BHI, Agar Mitis salivarius del cual se seleccionaron las colonias con las características morfológicas y tintoriales del Género *Streptococcus*, colonias que posteriormente se identificaron por sistema

automatizado MicroScanSystem de la casa Dade/MicroScan Pos ID PC34 para Gram positivos el cual identifica el fenotipo mediante un panel de 32 pozos reactivos de sustratos para reacción bioquímica conformado por CV Cristal violeta – MS Micrococcus screen – NIT Nitritos – NOV Novobiacina – PGR B-d glucoronidasa – IDX Indol fosfatasa – VP Voges proskawer – OPT Optoquina – PHD fosfatasa – BE Bilis esculina – PYR Pirridolina – ARG Arginina – PGT Galactosidasa – URE urea – MAN Manitol – LAC lactosa – TRE Trehalosa – MNS Manosa – NaCl Cloruro de sodio – SOR Sorbitol – ARA Arabinosa – RBS Ribosa – INU Inulina – RAF Rafinosa – BAC Bacitracina – PRV Piruvato, y 6 pozos internos de control.

5.7. *Perfil de resistencia:* para el cumplimiento del segundo objetivo se determinó el perfil de resistencia con el panel anterior el cual contiene pozos de Aug Amoxicilina/ clavulónico 4/2 ug – AM ampicilina 8 ug – A/S ampicilina sulbactam 16/8ug – CfxS Cefoxitin 4 ug – Cax Ceftriaxone 32 ug – Cp Ciprofloxacina 2 ug – Cd Clindamicina 4 ug– Dap Daptomicina 4 ug– E Eritromicina 4 ug – Gm gentamicina 8 ug – GmS gentamicina synercid 500 ug – lcd Clindamicina inducible 4/0.5 ug – Lvx Levofloxacina 4 ug – Lzd Linezolid 4 ug – Mxf Moxifloxacina 4 ug – Fd Nitrofurantoina 64 ug – Ox Oxacilina 2 ug – P Penicilina 8ug – Rif Rifampicina 2 ug – StS Estreptomicina synercid 1000ug – Syn Synercid 2 ug – Te Tetraciclina 8 ug – T/S trimetropin sulfa 2/38 µg - Va Vancomicina 16 ug. Los puntos de corte para analizar la resistencia antibiótica establecida en el panel para el género *Streptococcus* se especifican en la tabla 1.

Las cepas identificadas como amoxicilino resistentes o con cualquier otro perfil de resistencia se les realizó prueba confirmatoria manual en medio Mueller-Hinton agarizado con 4 % NaCl y sensidisco respectivo incubándose a 35°C por 24 h (16), y las cepas se guardaron para caracterización molecular en un proyecto posterior.

Tabla 1. Puntos de corte establecidos para el sistema MicroScan para cada antibiótico en bacterias del género *Streptococcus*.

Nombre del antibiótico	Código	Puntos de corte en µg/ml
Amoxicilina/ clavulánico	AMC	S<=4 R>=8
Ampicilina	AMP	S<=.25 R>=.5
Ampicilina/ Sulbactam	SAM	S<=8 R>=32
Cefazolina	CZO	S<=8 R>=32
Ciprofloxacina	CIP	S<=1 R>=4

Clindamicina	CLI	S<=.5	R>=4
Daptomicina	DAP	S<=1	
Eritromicina	ERY	S<=.5	R>=8
Gentamicina	GEN	S<=4	R>=16
Levofloxacina	LVX	S<=1	R>=4
Linezolid	LNZ	S<=4	R>=8
Moxifloxacina	MFX	S<=.5	R>=2
Oxacilina	OXA	S<=2	R>=4
Penicilina G	PEN	S<=.125	R>=.25
Quinupristina/ Dalfopristina	QDA	S<=1	R>=4
Rifampicina	RIF	S<=1	R>=4
Tetraciclina	TCY	S<=4	R>=16
Trimetoprima/ Sulfametoxazol	SXT	S<=2	R>=4
Vancomicina	VAN	S<=4	R>=32

6. RESULTADOS

6..1. *Características de la población de estudio:*

- 6..1..1. A partir de los datos tabulados se pudo observar que el 43.3% de la población eran hombres y 56.7% mujeres. De ellos un 3.3 % provenían HPN, 41.7% DE MEISSEN y 55% de HUM.
- 6..1..2. La indicación clínica por la cual recibían tratamiento prolongado de antibióticos al momento de la toma de muestra era celulitis orofacial en un 27%, infección de tejidos blandos o colgajo en un 8%, pie diabético 7%, sepsis de diferente etiología 7%, infección de vías urinarias 7%, celulitis de miembros inferiores 5%, pielonefritis 3%, absceso facial 3%, peritonitis 3%, adenitis submaxilar 3% y otras en un 27% de los casos.
- 6..1..3. Adicionalmente los pacientes presentaban patologías de base asociadas como Diabetes Mellitus tipo II en un 26.6%, Hipertensión arterial en 23.3%, Hipotiroidismo/Hipertiroidismo 11,6%, Enfermedades autoinmunes (Artritis reumatoidea o Lupus eritematosos sistémico) 10 %, osteoporosis 5%, artrosis 3.3% y No Referidas en un 18.3%.
- 6..1..4. Los antibióticos previos suministrados fueron clindamicina en un 48,3%, Penicilina G 30%, Penicilina 28,3%, Ampicilina/sulbactan 20%, cefazolina 16.6%, Meropenem 15%, oxacilina 13,3%, cefepime 10%, vancomicina 8,3 % entre los más formulados.

6..2. **Aislamiento de cepas sugestivas de *Streptococcus***: Para el cumplimiento del primer objetivo referente a la identificación de *Streptococcus* se obtuvieron los siguientes resultados en cada uno de los procedimientos:

6..2..1. De los 50 cultivos realizados, en el 86% (43 cultivos) de ellos fueron aislados microorganismos del género *Streptococcus* y 14% de ellos (7 cultivos) se realizaron aislamientos de otros microorganismos diferentes al género *Streptococcus*. Solo los cultivos con crecimiento sugestivo de *Streptococcus* siguieron el procedimiento.

6..2..2. De los 43 cultivos sugestivos para *Streptococcus* se logró obtener un total de 106 aislamientos de *Streptococcus spp.* encontrándose cultivos con solo cepas de *Streptococcus* y algunos acompañados de colonias de *Staphylococcus* o con bacilos Gram positivos y bacilos Gram negativos que no se informan por no formar parte del estudio.

6..3. **Identificación bioquímica de *Streptococcus***: Seleccionadas las 106 cepas sugestivas se realizó el Screening inicial y posterior identificación por MicroScan 34 como se detalló en la metodología encontrándose los resultados que se especifican en la tabla 2.

Tabla 2. Distribución por género y especie de los 106 aislamientos realizados.

GENERO Y ESPECIE	Casos	%
<i>Strep.mitis</i>	36	33,9
<i>Strep.salivarium</i>	14	13,2
<i>Strep.oralis</i>	12	11,3
<i>Strep.intermedius</i>	10	9,4
<i>Strep.sanguis</i>	10	9,4
<i>Strep.milleri</i>	7	6,6
<i>Strep.mobillorum</i>	6	5,6
<i>Strep.mutans</i>	5	5,1
<i>Strep.constellatus</i>	4	3,7
<i>Strep.bovis</i>	1	0,9
<i>Strept.anginosus</i>	1	0,9

6..3..1. La tabla muestra que se presentaron 11 especies de *Streptococcus* diferentes y que *S.mitis* fue el microorganismo predominante en un 33,9%.

6..4. **Perfil de Resistencia antibiótica:** para cumplir con el segundo objetivo una vez Identificadas las diferentes especies se procedió a realizar el antibiograma por el sistema de MicroScan 34 encontrándose 3 tipos de antibiogramas característicos:

6..4..1. El 92.5% de los *Streptococcus* (98 casos) presento sensibilidad a todos los antibióticos testeados.

6..4..2. El 4.7% de los *Streptococcus* (5 casos) se catalogó como Intermedio a amoxicilina presentándose todos los casos en cepas de *S.mitis*.

6..4..3. El 2.8% de los *Streptococcus* (3 casos) presentó resistencia a la amoxicilina presentándose en dos cepas de *S.mitis* y 1 cepa de *S.mutans*.

6..4..4. Los resultados detallados de los antibiogramas con sus respectivas MICs se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Perfil de resistencia que caracterizó a cada una de las cepas. Se agrupan en los 3 fenotipos presentados: sensibles a todo, Amoxicilina intermedia y Amoxicilina resistente. En Amarillo se resalta la MIC relevante.

Perfil	AMC	AMP	ATM	CEC	FEP	CTX	CRO	CXM	CLI	CHL	ERY	LVX	MEM	PEN	TCY	SXT	VAN
Sensible	<=.5	<=.06	<=.25	<=.5	<=.25	<=.25	<=.25	<=.25	<=.06	<=1	<=.06	<=.25	<=.06	<=.03	<=.5	<=.25	<=.12
Intermedio	<=.5	2	<=.25	<=.5	<=.25	<=.25	<=.25	<=.25	<=.06	<=1	<=.06	<=.25	<=.06	<=.03	<=.5	<=.25	<=.12
Resistente	<=.5	8	<=.25	<=.5	<=.25	<=.25	<=.25	<=.25	<=.06	<=1	1	<=.25	<=.06	<=.03	<=.5	<=.25	<=.12

*< significa sensible, > significa Resistente, I intermedio; CLI clindamicina, ERY eritromicina, LVX Levofloxacina, TCY tetraciclina, SXT trimetropinsulfa, VAN vancomicina, AMC amoxicilina/clavulánico, AMP ampicilina, ATM aztreonam, FEP cefepime, CTX cefotaxima, CRO ceftriaxoma, MEM meropenem.

6..5. **Frecuencia de Amoxicilino resistentes:** Para cumplir con el tercer objetivo y estimar la frecuencia de *Streptococcus* Amoxicilinoresistentes dentro de la población estudiada se tabularon los antibiogramas individualmente para determinar el número de especies que se ubican en cada uno de los tres perfiles encontrados obteniéndose los siguientes datos:

6..5..1. Por el método MicroScan 8 aislamientos (7.5%) presentaron un grado de resistencia a amoxicilina de los cuales 5 casos (4.7%) fueron intermedios y 3 casos (2.8%) fueron resistentes siendo *S.mitis* el que presentó el mayor número de casos. La tabla 4 detalla la información.

Tabla 4. Distribución de cepas por tipo de resistencia por MicroScan. En la columna 1 el perfil de resistencia en el centro el número de casos por especie y en la última columna el porcentaje respecto al tipo de resistencia

Antibiograma	Especie de <i>Streptococcus</i>	Casos	%
Cepas Sensibles	<i>Strep.Mitis sensible a todo</i>	29	92.5%
	<i>Strep.salivarium sensible</i>	14	
	<i>Strep.oralis sensible</i>	12	
	<i>Strep.intermedius sensible a todo</i>	10	
	<i>Strep.sanguis sensible</i>	10	
	<i>Strep.milleri sensible</i>	7	
	<i>Strep.mobillorum sensible</i>	6	
	<i>Strep.mutans sensible</i>	4	
	<i>Strep.constellatus sensible</i>	4	
	<i>Strep.bovis sensible a todo</i>	1	
	<i>Strept.anginosus sensible</i>	1	
	Cepas intermedias	<i>Strept.mitis intermedio</i>	
Cepas resistentes	<i>Strep.mitis resistente</i>	2	2.8%
	<i>Strep.mutans resistentes</i>	1	

6..5..2. Los 8 aislamientos fueron confirmados manualmente por Antibiograma manual metodología de KirbyBauer y de ellos se encontró que 3 de los 5 aislamientos de *S.mitis* que eran intermedios dieron sensibles ante la prueba manual.

6..5..3. Realizada la confirmación manual se puede establecer para el tercer objetivo que el 95.2% de los aislamientos (98 casos originales + los 3 casos confirmados manualmente) son sensibles y que solo un 1.88% (2 casos) son intermedios a Amoxicilina y 2.8% (3 casos) son resistentes a la Amoxicilina.

7. DISCUSION:

La microflora bacteriana normal de la cavidad bucal está compuesta por un complejo ecosistema conformado por diversos microorganismos dentro de los *cuales se han observado Streptococcus, Veillonella, Granulicatella, Neisseria, Haemophilus, Corynebacterium, Rothia, Actinomyces, Prevotella, Capnocytophaga, Porphyromonas, Fusobacterium* donde algunos se van a comportar como patógenos oportunistas (18). Se ha generalizado la localización de estos microorganismos, en las cavidades nasales donde la microbiota bacteriana está compuesta principalmente por corineformes y *Staphylococcus* coagulasa negativos y a nivel orofaringe los habitantes bacterianos dominantes son los *Streptococcus* (20). Entre estos los más fuertemente asociados a patologías dentales son las especies de *Streptococcus*, *investigaciones* han mostrado que el género más abundante en muestras orales es *Streptococcus* del grupo *viridans* con una prevalencia del 64% (19,24). Como se pudo observar en el presente estudio ocupando el 86% de los aislamientos en cavidad oral.

Se ha evidenciado un aumento significativo de *S.mutans* en sujetos con caries, un estudio realizado por Salazar *et al.* mostró la prevalencia de *S.mutans* en 88,2% en pacientes sin uso de antibiótico y Fukuda *et al.* en su investigación en pacientes menores de 12 años reflejo un porcentaje de 70% - 97% de *S.mutans* en pacientes sin uso de antibiótico y un 47% de *S.mutans* en niños de 6 – 12 años que dejaron de recibir tratamiento a su vez no se detectaron niveles de *S.mutans* en niños 3 – 6 años con uso prolongado de antibiotico en comparación con nuestro estudio donde la especie más representativa es *S.mitis* con un 33,9% de prevalencia y un 5,1% de *S.mutans* en pacientes con uso prolongado de antibióticos (21,25).

Estudios mencionan que los *Streptococcus* orales juegan un papel importante en la resistencia frente a la colonización que es inhibida por la producción de peróxido de hidrogeno frente a otras especies bacterianas, por otro lado se ha observado que se puede dar una intercambio de material genético entre bacterias incluyendo las patógenas que van a dar lugar a cepas resistentes como se han venido propagando frente a Penicilina G y Eritromicina (20), como se pudo evidenciar en este estudio donde se obtuvieron 1,88% de las cepas intermedias a amoxicilina y un 2,8% de las cepas son resistentes a amoxicilina y a su vez se ha evaluado el hecho de que la administración de diversos antibióticos puede conducir a un mayor número de *Streptococcus* resistentes debido a la transferencia por conjugación de resistencia a Eritromicina A del grupo *viridans* (20).

En investigaciones realizadas por Bryskier A. y Chunduri N. se ha mencionado la heterogeneidad frente a la alta susceptibilidad a antibióticos utilizados habitualmente dentro de los cuales se destacan la amoxicilina – ácido clavulánico 95%, amoxicilina 90%, eritromicina 59%, clindamicina 85% como se observó en el presente estudio dando como resultado un total de cepas sensibles del 95,2% todos los antibióticos testeados(20,24).

Autores como William W. y Kevin L. en su estudio demostraron por medio de secuenciación de fragmentos genéticos que los microorganismos involucrados en pacientes sanos son distintos en pacientes enfermos, observándose que en muestras de infección y abscesos estaba dominado por los organismos anaerobios, mientras que la microbiota bucal tenía una mezcla de organismos aerobios, facultativos y anaeróbicos, en este estudio se presentaron indicaciones clínicas de relevancia como celulitis oro facial en un 27%, infección de tejidos blandos o colgajo en un 8% y sepsis de diferente etiología 7% entre otras presentes en los pacientes incluidos y donde se observó la prevalencia de *Streptococcus spp.* (19).

La gran mayoría de autores ha trabajado con grupos que caracterizan la flora bucal en pacientes sanos con su respectivo control y pacientes con manifestaciones clínicas como infecciones sistémicas o infecciones localizadas entre hombres y mujeres como la población en estudio (19). En un estudio realizado por Fukuda *et al.* a pacientes menores de 6 años de edad con anemia de células falciformes, diagnosticada antes de los 3 meses de edad que recibieron antibióticos profilácticos diarios de penicilina dos veces al día no presentaron niveles detectables *Streptococcus mutans* (22), en nuestros pacientes con tratamiento prolongado de antibióticos (Clindamicina, Penicilina G, Penicilina, Ampicilina/sulbactam, Cefazolina, Meropenem, Oxacilina, Cefepime, Vancomicina) para el tratamiento de celulitis orofacial, infección de tejidos blandos o colgajo, pie diabético, sepsis de diferente etiología, infección de vías urinarias, celulitis de miembros inferiores, pielonefritis, absceso facial, peritonitis, adenitis submaxilar entre otras, se encontró un bajo porcentaje (5.1%) de cepas de *S.mutans*.

Sobre las MIC en los resultados del antibiograma se ha documentado que la resistencia a penicilina (>4µg/mL) frente a *Streptococcus* del grupo *viridans* se ha venido incrementando debido a las alteraciones que se presentan en las proteínas de unión a penicilina (PBPs) con mayor frecuencia pero donde también se ha observado que la administración inadecuada de antibióticos o uso prolongado de los mismos fomenta en

cepas como *S.mitis* y *s.mutans* resistencia como se pudo evidenciar en el presente estudio con un 2.8% de cepas amoxicilino resistentes ($>8/4\mu\text{g/mL}$) (23).

Se considera de gran importancia la confirmación con antibiograma manual debió a las interferencias que se pueden presentar en el método automatizado (MicroScan) 34 ya que se pueden dar errores de procedimiento como en la preparación del inóculo, selección incorrecta de la cepa, tiempos y temperaturas de incubación inadecuados, contaminación entre otros, también se pueden observar inconsistencias técnicas como en el dispensador frente a los paneles ya que se pueden suministrar mayores concentraciones generando falsas resistencias o menores concentraciones propiciando falsa sensibilidad, como se pudo evidenciar en este estudio donde se observó que de los 8 aislamientos confirmados manualmente por Antibiograma manual de KirbyBauer 3 de los 5 aislamientos de *S.mitis* que eran intermedios dieron sensibles ante la prueba manual, presentando una ventaja debido a que el gradiente de Ag – Antimicrobiano cubre un amplio rango de concentración (23).

En una investigación realizada por Chunduri N. se observó un patrón de resistencia en *Streptococcus* donde se da la prevalencia a eritromicina en un 40%, amoxicilina 10% y amoxicilina-acido clavulánico 5% en comparación con los resultados del presente estudio que permitieron observar una resistencia frente a amoxicilina en un 2.8% de los aislamientos, correspondientes a *S.mitis* (2 casos) y *S.mutans* (1 caso), lo cual es clínicamente importante para los pacientes que requieren de un tratamiento odontológico invasivo, ya que pueden necesitar de la administración de antibiótico (24). Una identificación microbiana y su perfil de resistencia ayudan al odontólogo a una correcta elección del antibiótico y por ende al éxito de este, minimizando el riesgo de infección y garantizando la mejoría del paciente (12).

8. CONCLUSIONES

El screening inicial con medios óptimos para el crecimiento de las cepas de interés nos permitió identificar la presencia en un 86% de *Streptococcus spp.* en los aislamientos y posteriormente en panel de pruebas bioquímicas constituyó una herramienta fundamental en la confirmación de las cepas siendo *S.mitis* el microorganismo con mayor prevalencia en un 33,9%.

El método MicroScan ID PC 34 para Gram positivos y la posterior confirmación manual con el método Mueller-Hinton permitieron la identificación de las cepas resistentes con un 2,88% de prevalencia ya que los *Streptococcus spp.* no presentan una sensibilidad constante pero en un 95,2% de los casos se evidencio sensibilidad.

Las cepas características que mostraron resistencia en un 2,88% fueron en 1 caso *S.mutans* y 2 casos *S.mitis* frente a amoxicilina, debido a esto es importante conocer el perfil de resistencia para orientar un optimo tratamiento en los pacientes.

9. SUGERENCIAS

En importante continuar el presente estudio con identificación microbiológica molecular utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) debido a que en la resistencia antimicrobiana por parte de *Streptococcus spp.* están implicadas proteínas como (PBPs) y es optima la identificación por medio de técnicas de alta sensibilidad, especificidad y estabilidad, que permitan generar un tratamiento oportuno en los pacientes.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Linossier AC, Valenzuela CY, Soler ER, Contreras EM. [Colonization of the oral cavity by group mutans streptococci according to age assessed by a semi-quantitative method in saliva]. *Rev Chilena Infectol* 2011 06;28(3):230-237.
2. Rodriguez, A., Rodriguez, M. [Tratamiento antibiótico de la infección odontogénica]. *Inf Ter Sist Nac Salud* 2009; 33:67-79
3. Prieto-Prieto J, Calvo A. Microbiological basis of oral infections and sensitivity to antibiotics. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2004;9 Suppl:15.
4. Rodriguez-Núñez A, Cisneros-Cabello R, Velasco-Ortega E, Llamas-Carreras J, Tórres-Lagares D, Segura-Egea J. Antibiotic use by members of the Spanish Endodontic Society. *J Endod* 2009 09;35(9):1198-1203
5. Klimiene I, Ruzauskas M, Spakauskas V, Matusevicius A, Mockeliunas R, Pereckiene A, et al. Antimicrobial resistance patterns to beta-lactams of gram-positive cocci isolated from bovine mastitis in Lithuania. *Pol J Vet Sci* 2011;14(3):467-472.
6. Morras, E. Profilaxis de la Endocarditis Infecciosa en la Consulta Odontológica. Normas Actuales de la Asociación Americana del Corazón. *Acta odontol. venez* 2002; 40(3): 301-304.
7. Koneman E, Allen S. *Diagnostico Microbiologico: texto y atlas a color*. sexta ed. buenos aires, argentina.: ed.medica panamericana; 2008.
8. Chamorro-Jiménez AL, Ospina-Cataño A, Arango-Rincón JC, Martínez-Delgado CM. Effect of secretory IgA on the adherence of *Streptococcus Mutans* on human teeth. *CES Odontología* 2013 07;26(2):76-106.
9. Duque RJ, Pérez A. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Rev. cuba. estomatol.* 2006; 43(1).
10. Ojeda-Garcés JC, Oviedo-García E, Salas LA. *Streptococcus mutans* and dental caries. (English). *CES Odontología* 2013 01;26(1):44-56.
11. Salazar LA, Medina F, Donoso F, Barrientos L, Sanhueza A. Acción Antimicrobiana in vitro de la Miel de Abejas sobre los Microorganismos Cariogénicos Estreptococos del Grupo mutans. (Spanish). *International Journal of Morphology* 2009 03;27(1):77-82.
12. Moreno VA, Gómez CJ. Terapia antibiótica en odontología de práctica general. *Rev ADM.* 2012;69(4): 168-175
13. Ajantha, MD, Veda H. *Antibacterial Drug Resistance and its Impact on Dentistry.* Rev. The New York State Dental Journal. 2012
14. S D S. Toma de muestras dentales en Secretaría Distrital de Salud. Consenso en toma de muestras microbiológicas.2008: 49-52
15. Thomson BR, Miller M . Specimen collection, transport, and processing: *Bacteriology. Manual of clinical microbiology.* 8th ed. 2003.
16. Ruoff KL. Algorithm for identification of aerobic gram positive cocci. *Manual of Clinical Microbiology.* American Society for Microbiology 2003: 331–333.
17. Maestre JR, Bascones A, Sánchez P y col. Enfermedad periodon-tal, odontopatógenos y perfil de resistencia a los antibióticos habitualmente utilizados como tratamiento o profilaxis en odontología en España. *Rev Esp Quimioterap* 2007; 20 (1):61-67.
18. Carranza MLG. MICROBIOLOGIA DE LA CARIES. (Spanish). *Revista Chilena de Tecnología Médica* 2004 07;24(1):1118-1125.

19. Hsiao WW, Li KL, Liu Z, Jones C, Fraser-Liggett C, Fouad AF. Microbial transformation from normal oral microbiota to acute endodontic infections. *BMC Genomics* 2012 07/28;13:345-345.
20. Bryskier A. Viridans group streptococci: a reservoir of resistant bacteria in oral cavities. *Clinical Microbiology & Infection* 2002 02;8(2):65-69.
21. Kreth J, Merritt J, Qi F. Bacterial and Host Interactions of Oral Streptococci. *DNA & Cell Biology* 2009 08;28(8):397-403.
22. Fukuda JT, Sonis AL, Platt OS, Kurth S. Acquisition of Mutans Streptococci and Caries Prevalence in Pediatric Sickle Cell Anemia Patients Receiving Long-term Antibiotic Therapy. *Pediatr Dent* 2005 May;27(3):186-190.
23. Stephen J. Cavalieri editor. *Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.* ; American Society for Microbiology. editora coordinadora, Marie B. Coyle, 2009.
24. Chunduri NS, Madasu K, Goteki VR, Karpe T, Reddy H. Evaluation of bacterial spectrum of orofacial infections and their antibiotic susceptibility. *Rev Ann Maxillofac Surg* 2012; 2 (1):46-50.
25. Salazar. A, Vásquez C, Almuna A, Oporto G, Santana R, Sanhueza A, et al. Detección Molecular de Estreptococos Cariogénicos en Saliva. *International Journal Of Morphology* [serial on the Internet]. (2008, Dec), [cited November 30, 2014]; 26(4): 951-658.

