

# **TÍTULO:** PERFIL ANTIBIÓTICO DE ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO VIRIDANS AISLADOS DE CAVIDAD ORAL EN INDIVIDUOS CON USO PROLONGADO DE ANTIBIÓTICOS

## **RESUMEN:**

### **Introducción**

Los estreptococos del grupo *viridans* (SGV) son un grupo heterogéneo de bacterias saprófitas anaerobias facultativas que forman parte de la flora normal de cavidad oral y son patógenos mayoritarios en distintas infecciones orofaciales. El incremento de la resistencia a múltiples antibióticos por parte de este grupo de bacterias cobra importancia en las infecciones nosocomiales que se producen como resultado de antibioticoterapias prolongadas en pacientes hospitalizados en los cuales estos microorganismos habituales son sustituidos por bacterias multirresistentes que representa un riesgo no solo para la salud de los individuos sino que contribuyen a la creciente epidemia de resistencia bacteriana.

**Objetivos:** Determinar el porcentaje de cepas de SGV aisladas de cavidad oral que presente resistencia a los antibióticos más frecuentemente utilizados en prevención y tratamiento de diversas patologías infecciosas locales y sistémicas.

**Metodología:** Se realizó un estudio observacional descriptivo de corte transversal en el que se incluyeron 60 pacientes hospitalizados con historia de terapia antibiótica por más de 3 semanas. Las muestras se procesaron siguiendo protocolos estandarizados de recolección, aislamiento e identificación para SGV de cavidad oral y el protocolo de pruebas de sensibilidad a antibióticos Microscan. Los resultados se muestran en tablas y gráficas de frecuencias absolutas y relativas.

**Resultados:** Se tomaron en total 120 muestras (2 hisopos por paciente) de las cuales se aislaron un total de 136 cepas, con un promedio de 2,27 cepas por paciente. De las cepas aisladas el 80,15% correspondían a estreptococos del grupo *viridans* y el 19,85% a otros géneros. Se aislaron 36 cepas de *Streptococcus mitis* que corresponden al 33,03% del total de cepas del grupo de SGV y el 26,47% del total de cepas aisladas. De las cepas aisladas de géneros distintos a SGV *Staphylococcus spp* fue el género aislado en mayor porcentaje: 59.26%. La principal indicación para la terapia antibiótica intrahospitalaria fueron infecciones orofaciales en un 28,33% y la penicilina fue el antibiótico más utilizado ya sea en terapia única, combinada o múltiple en todos los pacientes. El 93,6% de las cepas de SGV fueron sensibles a todos los antibióticos incluidos en el panel, 4,6% presentaron resistencia intermedia y 1.8% alta resistencia.

### **Conclusión:**

El uso de distintas combinaciones y modalidades de terapia antibiótica no tiene efecto en la susceptibilidad de estreptococos del grupo *viridans* aislados de cavidad oral en pacientes hospitalizados independiente de la duración del tratamiento.

**Palabras clave:** farmacoresistencia bacteriana, estreptococos del grupo *viridans*, tratamiento farmacológico.

## **SUMMARY:**

### **Introduction**

*Viridans* group streptococci (VGS) are a heterogeneous group of saprophytic facultative anaerobic bacteria that are part of the normal flora of the oral cavity. They are also major pathogens in different orofacial infections. The increased resistance to multiple antibiotics in this group of bacteria becomes important in nosocomial infections which occur as a result of prolonged antibiotic therapies inpatient where these common microorganisms are replaced by multi-resistant bacteria that contribute not only to the growing epidemic of bacterial resistance but also put in risk the health of patients.

**Objectives:** To determine the percentage of VGS strains isolated from oral cavity resistant to the most commonly antibiotics used in prevention and treatment of various infectious diseases.

**Methodology:** This is a descriptive cross-sectional study that included 60 hospitalized patients with a history of antibiotic therapy for more than 3 weeks. The samples were processed following standardized protocols for collection, isolation and identification of oral cavity VGS and a protocol of antibiotic susceptibility testing Microscan. The results are shown in tables and graphs of absolute and relative frequencies.

**Results:** A total of 120 samples (2 per patient swabs) were collected. A total of 136 strains were isolated, with an average of 2.27 strains per patient. The 80.15% of the isolates were viridans streptococci and 19.85% other genres. Thirty six *Streptococcus mitis* strains were isolated corresponding to 33.03% of all SGV strains and 26.47% of the total isolated strains. Of the isolates different to VGS, *Staphylococcus spp* were the group isolated in a higher percentage: 59.26%. The main indication for antibiotic therapy was orofacial infection with a 28.33%. Penicillin was the antibiotic further used either in single, combined or multiple therapies in all patients.

**Conclusion:**

Using different combinations and types of antibiotic therapy inpatient has no effect on the susceptibility of *viridans* group streptococci isolated from oral cavity separate from treatment.

**Keywords:** Antibacterial Drug Resistance, Viridans group streptococci, drug treatment.

## Introducción

Los estreptococos del grupo *viridans* son un grupo heterogéneo de bacterias saprófitas anaerobias facultativas microaerofílicas que forman parte de la flora normal de cavidad oral y son patógenos mayoritarios en distintas infecciones orofaciales. Presentan una prevalencia creciente de resistencia frente a determinados agentes antimicrobianos como los mácrólidos (entre el 35%-70%), penicilinas (naturales o sintéticas) y clindamicina en un porcentaje entre el 10% y 15% (1). En España se ha descrito una alta prevalencia de bacteriemias iatrogénicas orales causadas por estreptococos resistentes a la eritromicina (40,8%) y la clindamicina (21%), siendo la mayoría de los aislamientos sensibles a las aminopenicilinas(2).

Las penicilinas sintéticas que son muy utilizada en el tratamiento de las infecciones odontogénicas (3), han disminuido su eficacia y efectividad en los últimos años, por el incremento del número de bacterias productoras de betalactamasas; entre las cuales se destacan los estreptococos del grupo *viridans*.

Aunque la resistencia de los microorganismos a los antibióticos es un problema que se manifestó desde el comienzo de su aplicación, hoy en día los porcentajes de resistencia han alcanzado cifras alarmantes a escala global (4), sumado al hecho de la mala utilización de los antibióticos en consulta tanto médica como odontología así como en el ámbito hospitalario estiman un uso incorrecto del 75% de los antibióticos prescritos (5).

Las infecciones odontológicas (caries, pulpitis, abscesos, gingivitis, periodontitis y pericoronaritis) se sitúan como la primera causa de patología infecciosa en el mundo (4) no sólo por su frecuencia sino también por su posible gravedad y complicaciones a distancia que incluyen: celulitis, mediastinitis, trombosis del seno cavernoso, fascitis necrotizante, endocarditis bacteriana, etc. (6). La infección odontogénica es la tercera causa de consumo de antibiótico generando aproximadamente el 10-12% del total de las prescripciones de estos fármacos en la comunidad (7).

El incremento de la resistencia a múltiples antibióticos de estreptococos del grupo *viridans* cobra importancia en las infecciones nosocomiales que se producen como resultado de antibioticoterapias prolongadas en pacientes hospitalizados (3), quienes luego de pocas horas de haber ingresado reciben antibióticos que modifican la flora normal de boca, orofaringe y piel sustituyéndose a los microorganismos habituales por bacterias multirresistentes que representa un riesgo no solo para la salud de los individuos sino que contribuyen a la creciente epidemia de resistencia bacteriana, grave problema de salud pública mundial (8).

En este contexto se plantean el presente estudio con el objetivo de conocer el perfil antibiótico de estreptococos del grupo *viridans* aislados en cavidad oral de individuos con uso prolongado de antibióticos y así reevaluar su uso y manejo responsable en aras de preservar los efectos sobre determinadas infecciones, reducir las resistencias bacterianas y minimizar los posibles efectos secundarios.

### **Metodología**

Se realizó un estudio observacional descriptivo de corte transversal, en el que se incluyeron 60 pacientes internados en los Hospitales: Universitario Mayor Mederi y Maissen ESE de la ciudad de Bogotá, durante el período Enero- Junio 2014, con historia de terapia antibiótica por más de 3 semanas.

Para la recolección de la muestra y previa firma del consentimiento informado aprobado por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana, Comité de Ética del Hospital Universitario Mayor de Mederi y Junta Directiva del Hospital Meissen, las muestras se tomaron usando la técnica de frotis mediante un barrido de la cavidad oral con 2 hisopos por cada paciente previamente esterilizados, que luego se colocaron en tubos con caldo tioglicolato para su posterior embalaje y transporte al Laboratorio de Bacteriología Especializada de la Universidad Javeriana; el procedimiento se hizo siguiendo los lineamientos establecidos por el manual de tomas de muestras microbiológicas de la Secretaría Distrital de Salud, y de acuerdo al protocolo institucional.

Las muestras se sembraron en medio selectivo Agar mitis salivarius y Agar chocolate base tripticasa soya y se seleccionaron las colonias con las características morfológicas y tintoriales del género *Streptococcus*, colonias que posteriormente fueron sometidas a la identificación bioquímica Api 20 Strep (Biomérieux).

Para determinar la CIM (Concentración inhibitoria mínima) y confirmar el fenotipo de estreptococos del grupo *viridans* aislados, las cepas que por la técnica API 20 resultaron positivas fueron confirmadas por método de dilución en caldo por el sistema Microscan System siguiendo las instrucciones de la casa comercial Becton Dickison la cual identifica el fenotipo mediante un panel de 27 pozos reactivos de sustratos para reacción bioquímica que contiene como pruebas cristal violeta, Micrococcus screen, nitritos, novobiacina, PGR,  $\beta$ -d glucoronidasa, indol fosfatasa, voges proskawer, optoquina, fosfatasa, bilis esculina, pirridolina, arginina, galactosidasa, urea, manitol, lactosa, trehalosa, mannososa, cloruro de sodio, sorbitol, arabinosa, ribosa, inulina, raffinosa, bacitracina, piruvato.

El test de susceptibilidad para determinar los perfiles de resistencia a los antibióticos del microorganismo identificado se realizó bajo las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012) utilizando las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) reglamentadas terapéuticamente para 24 antibióticos como amoxicilina/clavulanico, ampicilina, ampicilina/sulbactam, cefoxitin, ceftriaxone, ciprofloxacina, clindamicina, daptomicina, eritromicina, gentamicina, gentamicina synercid, clindamicina inducible, levofloxacin, linezolid, moxifloxacina, nitrofurantoina, oxacilina, penicilina, rifampicina, estreptomocina synercid, tetraciclina, trimetropin sulfa, vancomicina.

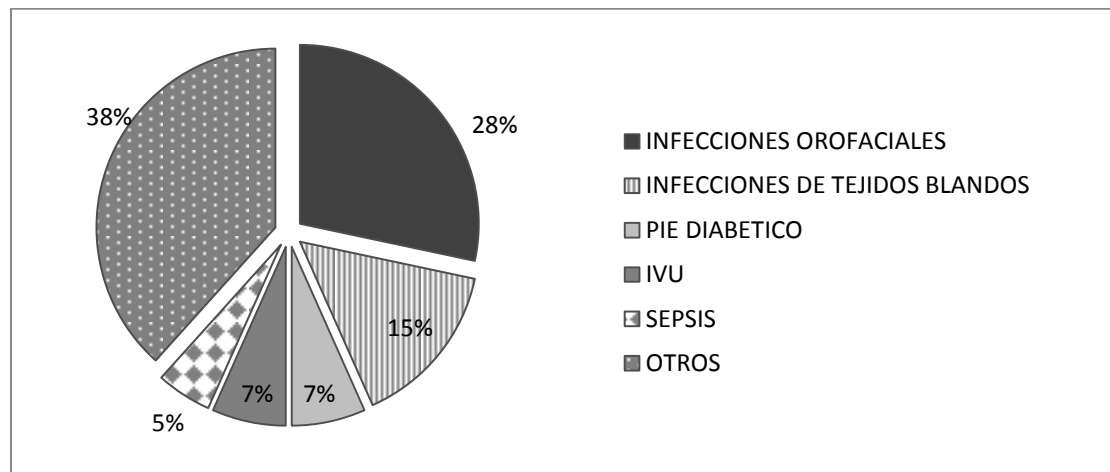
Para la clasificación de los estreptococos del grupo viridans (SGV) y de otras bacterias se utilizó la última actualización sobre nomenclatura, taxonomía y clasificación de diversos agentes infecciosos aerobios y facultativos realizada por Bruckner y Colonna (9).

### ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Los resultados se muestran en frecuencias absolutas y relativas del número de sujetos que presentan estreptococos del grupo *viridans* en la cavidad oral y el número de cepas sensibles o resistentes a los antibióticos.

#### Resultados:

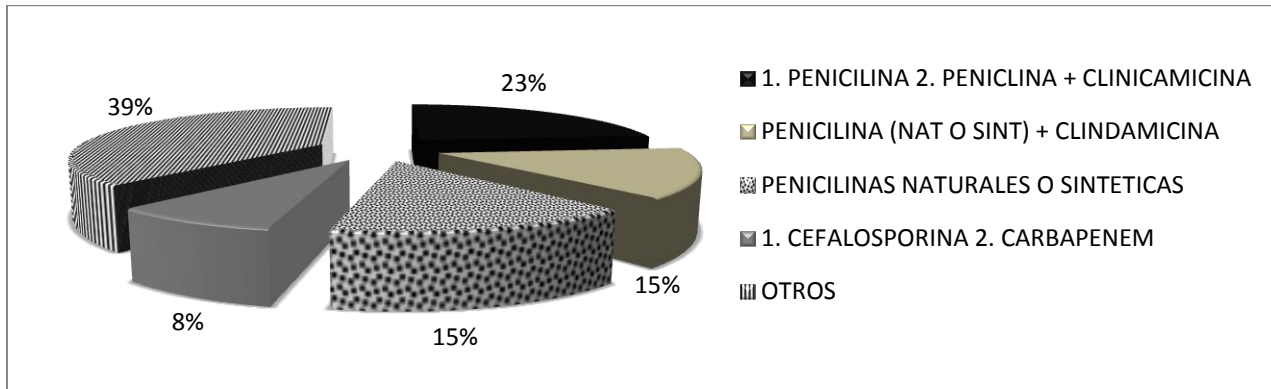
En total se incluyeron 60 pacientes de los cuales el 43.33% fueron hombres y el 56.67% fueron mujeres. La principal indicación para la terapia antibiótica intrahospitalaria incluyó infecciones orofaciales (28,33%), infecciones de tejidos blandos (15%), pie diabético e infecciones de vías urinarias 6,67% cada una; sepsis (5%) y otras infecciones en un 38,33% que corresponden a patologías únicas (Figura 1).



**Figura 1. Distribución de las patologías en pacientes hospitalizados con terapia antibiótica por más de 3 semanas.**

En la mayoría de los pacientes 51,67% se utilizó una terapia antibiótica múltiple, en un 30% terapia antibiótica única y en el 18,33% terapia antibiótica combinada. La penicilina fue el antibiótico más utilizado ya sea en terapia única, combinada o múltiple. Dentro del estudio se observó un amplio espectro de antibióticos formulados (38,33%) sin embargo la combinación penicilina - penicilina + clindamicina fue usada en el 23,33% de los pacientes, penicilinas

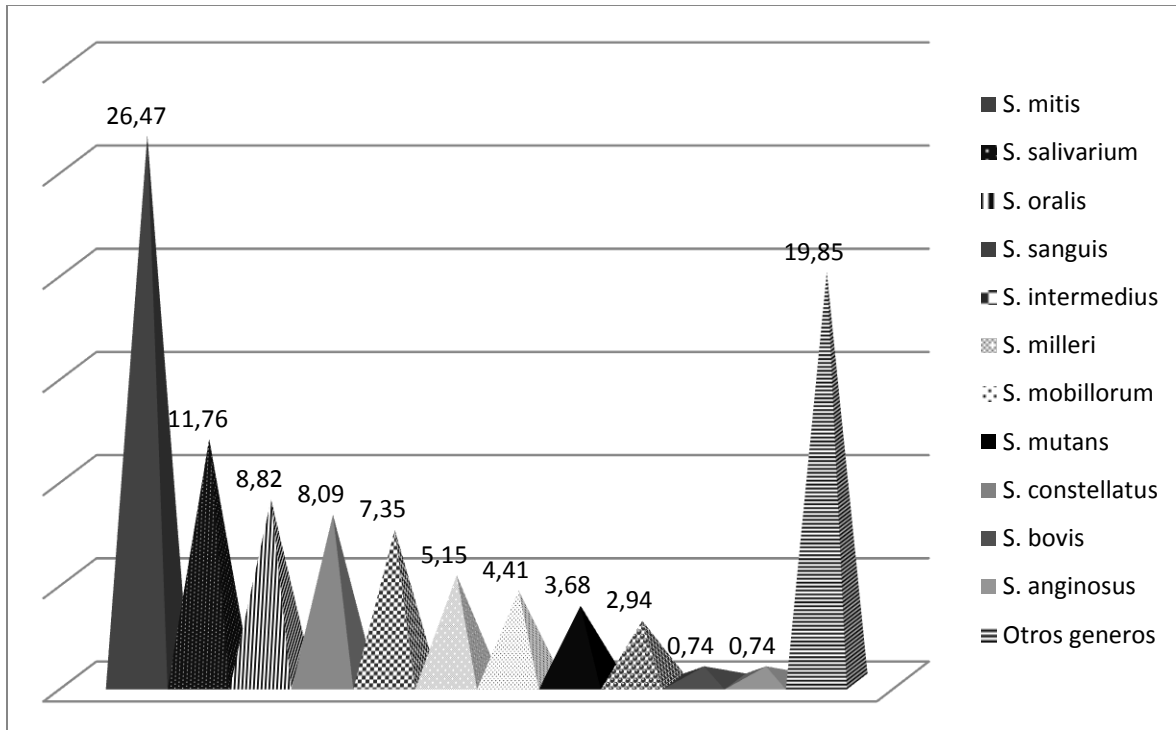
naturales o sintéticas + clindamicina en el 15% y cefalosporinas – carbapenemes en 8,33% (Figura 2).



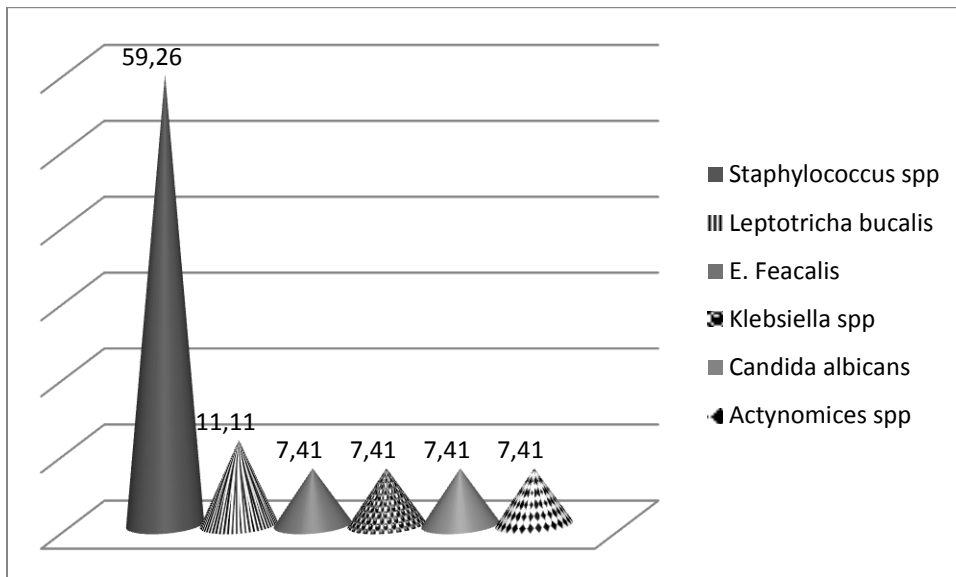
**FIGURA 2. Combinaciones antibióticas más utilizadas en pacientes hospitalizados con terapia antibiótica por más de 3 semanas.**

De las muestras de cada paciente se aislaron un total de 136 cepas, con un promedio de 2,27 cepas por paciente. De las cepas aisladas el 80,15% (109 cepas) correspondían a estreptococos del grupo *viridans* y el 19,85% a otros géneros (Figura 3).

Dentro de los estreptococos del grupo *viridans* se aislaron 36 cepas de *Streptococcus mitis* que corresponden al 33,03% del total de cepas de este grupo y el 26,47% del total de cepas aisladas. (Figura 3) De las cepas aisladas de géneros distintos a estreptococos, *Staphylococcus spp* fue el género aislado en mayor porcentaje: 59,26% en los cuales se incluyen *Staphylococcus aureus* meticilin sensibles y resistentes, y *Staphylococcus aureus* coagulasa negativos (Figura 4).



**Figura 3: Porcentaje total de cepas de estreptococos del grupo viridans aislados de cavidad oral en pacientes hospitalizados con más de 3 semanas de antibiótico**



**Figura 4: Porcentaje de cepas de géneros diferentes a estreptococos del grupo viridans aislados de cavidad oral en pacientes hospitalizados con más de 3 semanas de antibiótico**

El porcentaje de sensibilidad y resistencia del total de cepas de estreptococos del grupo *viridans* se muestran en la Tabla 1. El 93,6% de las cepas fueron sensibles a todos los antibióticos incluidos en el panel, 4,6% presentaron resistencia intermedia y 1,8% alta resistencia. El perfil antibiótico de este grupo se muestra en la tabla 3.

<b>Tabla 1: Porcentaje de sensibilidad del total de cepas de estreptococos del grupo viridans aislados en pacientes con más de 3 semanas de antibiótico</b>		<b>Cepas</b>	<b>%</b>
CEPAS SENSIBLES	<i>S. mitis</i>	29	26.6
	<i>S. salivarium</i>	16	14.7
	<i>S. oralis</i>	12	11.0
	<i>S. sanguis</i>	11	10.1
	<i>S. intermedius</i>	10	9.2
	<i>S. milleri</i>	7	6.4
	<i>S. mobillorum</i>	6	5.5
	<i>S. mutans</i>	5	4.6
	<i>S. constellatus</i>	4	3.7
	<i>S. bovis</i>	1	0.9
	<i>S. anginosus</i>	1	0.9
CEPAS INTERMEDIAS	<i>S. mitis</i>	5	4.6
CEPAS RESISTENTES	<i>S. mitis</i>	2	1.8
TOTAL		109	100.0

Para las cepas de otros géneros el porcentaje de sensibilidad y resistencia del total de cepas aislada en este grupo se estableció para cada microorganismo, los resultados se muestran en la tabla 3. El perfil antibiótico se resume en la tabla 4. No se realiza antibiograma de rutina a *Leptotricha bucalis*, *Actynomices spp* y *Candida albicans*.

<b>Tabla 2: Porcentaje de sensibilidad del total de cepas de otros géneros aisladas en pacientes con más de 3 semanas de antibiótico</b>		<b>Cepas</b>	<b>%</b>
OTROS GENEROS	<i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa negativo sensibles	7	25.9
	<i>Staphylococcus aureus</i> meticilin resistente	6	22.2
	<i>Staphylococcus aureus</i> meticilin sensible	4	14.8
	<i>Leptotricha bucalis</i> sensible	3	11.1
	<i>Enterococcus faecalis</i> sensible	2	7.4
	<i>Klebsiella spp</i> cefalo resistente	2	7.4
	<i>Actynomices spp</i>	2	7.4
	<i>Candida albicans</i> sensible	1	3.7
TOTAL		27	100.0

**Tabla 3. Perfil antibiótico de cepas de estreptococos del grupo viridans aisladas en pacientes con más de 3 semanas de antibiótico**

	Antibiótico*																
	AMC	AMP	AZM	CEC	FEP	CTX	CRO	CXM	CLI	CHL	ERY	LVX	MEM	PEN	TCY	SXT	VAN
Cepas sensibles	<=.5	<= .06	<=.25	<=.5	<=.25	<=.25	<=.25	<=.25	<=.06	<=1	<=.06	<=.25	<= .06	<=.03	<=.5	<=.25	<=.12
Cepas intermedias	<=.5	>2	<=.25	<=.5	<=.25	<=.25	<=.25	<=.25	<=.06	<=1	<=.06	<=.25	<= .06	<=.03	<=.5	<=.25	<=.12
Cepas resistentes	<=.5	>8	<=.25	<=.5	<=.25	<=.25	<=.25	<=.25	<=.06	<=1	>1	<=.25	<= .06	<=.03	<=.5	<=.25	<=.12

\*Puntos de corte de interpretación para cada antibiótico tomado del documento M110-S19 de CLSI.

Siglas: < significa sensible, > significa Resistente, AMC Amoxicilina/clavulánico AMP Ampicilina, AZM Azitromicina, CEC Cefaclor, FEP Cefepime, CTX cefotaxima, CRO Ceftriaxone, CXM Cefuroxima, CLI clindamicina, CHL Cloranfenicol, ERY eritromicina, LVX Levofloxacina, MEM Meropenem, PEN Penicilina, TCY tetraciclina, SXT trimetropinsulfa, VAN vancomicina.

**Tabla 3. Perfil antibiótico de cepas de estreptococos del grupo viridans aisladas en pacientes con más de 3 semanas de antibiótico**

	Antibiótico*																				
	AMC	AMP	SAM	CZO	FEP	CTX	CTC	FOX	CAZ	CRO	CIP	CLI	DAP	ERY	GEN	LVX	NIT	PEN	TCY	SXT	VAN
Staphylococcus aureus coagulasa negativo	>4	>8	>16	<16	<4						<=1	<=.5	<=.5	>4	<4	<=1	<=32	>8	>8	<=.5	2
Staphylococcus aureus meticilin resistente	>4	>8	>16	>16	>4						>2	<=.5	<=.5	4	<=4	2	64	>8	<=4	<=.5	0.5
Enterococcus faecalis	<=4	<=2	<=8	<=4							<=1	<=.5	<=.5	<=.5	<=4	<=1	64	<=.03	<=4	1	<=.25
Klebsiella pneumoniae		>16	<=8	>16	<=4	<=2	<=.5	<=8	<=1	<=1	2			<=4		<=32				>2	
Leptotricha bucalis	<=4	<=2	<=8	<=4							<=1	<=.5	<=.5	<=.5	<=4	<=1	<=32	<=.03	<=4	<=.5	<=.25

\*Puntos de corte de interpretación para cada antibiótico tomado del documento M110-S19 de CLSI.

Siglas: < significa sensible, > significa Resistente, AMC Amoxicilina/clavulánico AMP Ampicilina, SAM Ampicilina/Sulbactam, CZO Cefazolina, FEP Cefepime, CTX Cefotaxima, CTC Cefotaxima/Ac.Clavulánico, FOX Cefoxitina, CAZ Ceftazidime CRO Ceftriaxone, CIP Ciprofloxacinao, CLI clindamicina, DAP Daptomicina, ERY eritromicina, LVX Levofloxacina, NIT Nitrofurantoina, PEN Penicilina, TCY tetraciclina, SXT trimetropinsulfa, VAN vancomicina.



## DISCUSION

En el presente estudio se establece el perfil antibiótico de cepas de estreptococos del grupo viridans (SGV) aislados de cavidad oral en pacientes hospitalizados con terapia antibiótica prolongada.

El mayor obstáculo en el conocimiento de la sensibilidad a los antimicrobianos en relación con el género SVG son las manifiestas dificultades de su identificación fenotípica y la diversidad de criterios taxonómicos empleados a lo largo del tiempo, (10) así como la diversidad de bacterias que forman parte de la flora normal de cavidad oral.

Estudios realizados por Aas et al. 2005 (11) y Paster et al. 2006(12) reportan que la diversidad bacteriana en la cavidad oral incluye más de 700 especies, la mitad de las cuales nunca han sido cultivadas. Diferentes sitios en cavidad oral albergan una composición específica y especies únicas, lo cual dependerá del estado de la enfermedad y condiciones del paciente (12). La prevalencia de estas numerosas especies bacterianas es muy variable, pero son 10 a 20 grupos taxonómicos los más prevalentes que comprenden generalmente de 90 a 95% de la microbiota total. Se afirma que el restante 5 a 10% no es digno de ser considerado (13).

Entre los grupos taxonómicos más frecuentes de bacterias odontogénicas aisladas se destacan las especies anaerobias de los géneros *Peptostreptococcus spp*, *Prevotella spp* y *Fusobacterium spp*. Y en menor proporción bacterias aerobias y anaerobias facultativas del género *Streptococcus spp*, *Staphylococcus spp*, *Corynebacterium* entre otros. Dentro de este grupo SVG son la especie aislada más frecuentemente frente al conjunto total de bacterias aerobias aisladas (14). En el grupo de las levaduras, el género comensal más representativo en la cavidad bucal es *Candida albicans* (15), y otra especie comúnmente aislada junto con SVG son *Actinomyces spp* (16). Estos datos concuerdan con los resultados del presente estudio en los cuales SVG corresponden al 80,15% del total de cepas aisladas seguidos en orden de frecuencia por *Staphylococcus spp*, *Actinomyces spp* y *Candida albicans*. Especies bacterianas como *Leptotricha bucalis*, *Enterococcus faecalis* y *Klebsiella spp* aisladas en esta investigación no han sido reportadas comúnmente en cultivos de saliva de cavidad oral. *Leptotricha buccalis* aunque es un habitante de la flora normal de cavidad oral se ha asociado a bacteremias importantes en pacientes con neutropenia posterior a quimioterapia, en cultivos de sangre (17) pero muy rara vez aislada en cultivos de saliva.

Al analizar los SVG, el número de especies que comprenden este grupo es muy grande y algo complejo por el hecho de que algunos de los organismos comúnmente identificados se pueden separar en especies adicionales si se analiza cuidadosamente por medios bioquímicos y moleculares (18). Actualmente la técnica de referencia para la identificación de las especies de SVG es la secuenciación del RNAr 16S; a pesar de ello existen algunas dificultades para diferenciar las especies *S. oralis*, *S. mutans* y *S. mitis* que presentan una homología genética superior al 99% (19).

En el presente estudio la cepa aislada con más frecuencia de este grupo fue *S. mitis* el cual mostró los porcentajes más altos de resistencia (6,4%) especialmente a penicilinas sintéticas; esto se corresponde con los datos de Bilavsky et al (20) quienes encontraron con mayor frecuencia

cepas de *S. mitis* y *S. morbillorium* resistentes a penicilinas (33.3% y 28.5% respectivamente). En el estudio de Ioannidou et al, (21) *S. mitis* mostró la tasa más alta de resistencia a penicilina en los cultivos.

Guiot et al. (22) han reportado una alta prevalencia de SVG resistentes a penicilinas en cavidad oral en pacientes niños sanos, estas cepas muestran mayor afinidad en cavidad oral en niños que en adultos y se reporta una tasa de resistencia del 22% en este grupo.

La resistencia de estreptococos del grupo viridans a penicilina fue descrita por Krumwiede (23) en 1949 y desde ese entonces ha sido ampliamente investigada (24). Los porcentajes de resistencia de SGV a la penicilina oscilan entre un 10 a un 56.3% (25). La tendencia hacia la resistencia esta aparentemente correlacionada con la exposición previa al tratamiento antibiótico (26). Sin embargo Bilavsky et al. (20) no encontraron correlación alguna entre la exposición previa y la resistencia antibiótica.

Se ha descrito además que la población de SVG resistentes puede ser considerada como una reserva genética de la que se pueden transferir factores de resistencia a otras especies, tales como *S. pneumoniae*. Se ha demostrado que los genes determinantes de resistencia a penicilina de *S. mitis* pueden ser transferidos a *S. pneumoniae* pues se ha encontrado secuencias de *S. mitis* en los genes PBP de *S. pneumoniae* resistentes (27,28).

La resistencia de SGV a los antibióticos puede ser explicada en términos de concentración inadecuada del antibiótico o un nuevo concepto denominado resistencia antibiótica colectiva. El primer fenómeno explicado por una concentración muy baja del antibiótico en la mucosa oral en los pacientes con tratamiento antibiótico previo y por una duración relativamente corta del tratamiento para la selección de *Streptococcus* resistentes. Esta hipótesis se sustenta con datos de niveles séricos máximos después de administración periódica de penicilina que a las 4 semanas alcanza niveles de 0.003UI/ml los cuales no ejercen acción alguna sobre SGV de cavidad oral (29,30) y además porque la penicilina no se secreta bien a través de la mucosa por lo tanto no es eficaz al momento de erradicar SGV (31). Es decir los niveles de penicilina durante la administración parenteral son demasiado bajos para inducir resistencia (32). De esta forma, se explicarían los resultados obtenidos en este estudio en el cual aunque la penicilina fue uno de los antibióticos más usados (cifras mayores al 39%) las cepas de SGV resistentes fueron muy bajas. Por lo que se puede concluir que se requieren mayores concentraciones de antibióticos para la inhibición y muerte de la mayoría de especies de SVG de cavidad oral.

El segundo fenómeno de resistencia colectiva se explica desde los factores de virulencia de los *Streptococcus spp* en general y de *S. mitis* en particular. Estos factores incluyen la síntesis de polisacáridos extracelulares solubles e insolubles para la formación de biofilms, la síntesis de polisacáridos intracelulares, la capacidad para iniciar el desarrollo a pH 5, e incluso fuera del ámbito oral su participación principalmente en las endocarditis subagudas (33). Estas bacterias además producen una amplia gama de bacteriocinas y mutacinas que son relativamente selectivas en la disminución de la viabilidad o la virulencia de otras especies (34). Estudios mostraron que el orden en el que las bacterias colonizan una superficie es crucial para que estos mecanismos se expresen o sean eficaces (35). La capacidad de SGV como formadores y colonizadores primarios de biofilms es uno de los factores de virulencia más importantes y una de sus

propiedades más ampliamente estudiadas (36). Se considera que los microorganismos en biofilms son muy difíciles o casi imposibles de erradicar (37).

El crecimiento dentro de los biofilms otorga a SGV protección frente a los antibióticos debido a la reducida penetración de diversos agentes antimicrobianos en su estructura interior (38). Además las bacterias en los biofilms pueden mostrar disminuciones notables en la susceptibilidad a los antibióticos y otras toxinas, resistiendo concentraciones del fármaco mucho más altas que las requeridas para eliminar las bacterias libres en densidades comparables (39). Este efecto conocido como “efecto inóculo” se da en poblaciones densas de bacterias las cuales resisten concentraciones de fármaco considerablemente mayores que las requeridas para matar a la misma población con una densidad inferior (40).

La densidad celular, organización espacial, la propia estructura física y composición de la matriz del biofilm en conjunto, pueden contribuir a la resistencia. En el biofilm, una matriz de exopolisacáridos y ADN extracelular pueden actuar como una barrera de difusión, previniendo que el medicamento llegue a las bacterias (41). La eficacia de esta barrera varía dependiendo del antibiótico. Grandes moléculas cargadas positivamente, aminoglucósidos y péptidos antimicrobianos se difunden pobremente en biofilms a diferencia de las quinolonas y β-lactámicos que parecen moverse libremente (42,43). Para los antibióticos que pueden penetrar en la matriz, la inactivación por enzimas de resistencia puede producir resistencia colectiva (44). La inactivación enzimática de antibióticos en las regiones exteriores de un biofilm puede impedir que estas lleguen a las capas más profundas, permitiendo sobrevivir potencialmente a las bacterias sensibles. Esto explicaría los datos de sensibilidad en el presente estudio de SGV, los cuales al ser aislados individualmente reportan una sensibilidad muy alta pero como lo indica los datos de Bascones A, et al. (45,46); Rodríguez-Avial I, et al. (47,48) y Tomás I, et al. (49,50) el fenómeno de resistencia en este grupo ha ido aumentando exponencialmente en especial a los antibióticos más comúnmente utilizados en odontología. Los datos incluyen porcentajes de resistencia a los antibióticos que van desde un 35%-70% para macrólidos y del 10-15% para penicilinas (naturales o sintéticas) y clindamicina (45). Otros autores han confirmado que la alta resistencia a los macrólidos [eritromicina, claritromicina (47)] se asocia frecuentemente a una alta resistencia a las tetraciclinas (48), a la clindamicina y los azálidos (49).

En España se ha descrito una alta prevalencia de bacteriemias iatrogénicas orales causadas por SGV resistentes a la eritromicina (40,8%) y la clindamicina (21%), siendo la mayoría de los aislamientos sensibles a las aminopenicilinas (50). Datos que concuerdan con los resultados de esta investigación.

En cuanto a la epidemiología de *Staphylococcus spp* en casos de infección y colonización por cepas de *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes (MRSA) en el ambiente de hospitalario, la mayor preocupación es la proximidad física del paciente colonizado o infectado y su ambiente con los trabajadores de salud (51); además la colonización por MRSA podría ser un factor de predicción de infección. De esta manera, no solo individuos hospitalizados y colonizados pueden presentar mayor riesgo de desarrollar infección por MRSA, pero también personas no hospitalizadas, trabajadores o no de servicios de salud, de acuerdo con sus condiciones de salud. Dada la posibilidad de dispersión y sobrevivencia de *Staphylococcus aureus* meticilina sensible (MSSA) y MRSA en el ambiente (52,53)

Los sitios anatómicos más estudiados para la investigación de *Staphylococcus aureus* y principalmente de MRSA, son la mucosa nasal y piel, sin embargo la cavidad bucal no ha sido objeto de investigación (54,55). A pesar de que *Staphylococcus aureus* no ocupa un gran porcentaje de la microbiota de cavidad bucal (56), MRSA genéticamente idénticos fueron aislados de la nariz anterior y lengua de 20 pacientes previamente colonizados, sugiriendo la transferencia desde la nasofaringe hacia la lengua (54). En el estudio de Almeida Cruz (57) se consideró elevada la prevalencia encontrada de 20,6% por tratarse de personas saludables, inclusive tratándose de un ambiente hospitalario. Su relevancia está en el hecho de que numerosas pequeñas gotas de saliva contaminadas con MRSA pueden ser diseminadas en el ambiente y de persona a persona, siendo evidente el riesgo del paciente ser colonizado por MRSA en la boca y, como tal, diseminador para pacientes, ambiente de asistencia de la salud y comunidad.

La prevalencia de resistencia a la meticilina superior a 40% es observada en *S. aureus* aislados en infecciones hospitalarias en el sur y este europeo (58). Tasas de 31% entre aislados de pacientes con infección de piel y tejidos blandos fueron relatadas en América Latina (59), llegando a aproximadamente 65% en Unidades de Terapia Intensiva de hospitales norteamericanos (60). Sin embargo se debe resaltar que se trata de datos de individuos con infección. En este estudio la resistencia alcanzó un porcentaje de 22.2% para MRSA y 14,8% para los MSSA.

## CONCLUSIONES

En conclusión el uso de distintas combinaciones y modalidades de terapia antibiótica no tiene efecto en la susceptibilidad de estreptococos del grupo *viridans* aislados de cavidad oral en pacientes hospitalizados independiente de la duración del tratamiento.

Los datos alta sensibilidad obtenidos en el presente estudio en cepas aisladas individualmente se pueden explicar a través de la capacidad de SGV de formación de biofilms en cavidad oral que les confiere protección frente a los antibióticos comúnmente utilizados para el manejo de infecciones. Sin embargo por el reducido tamaño de la muestra serán necesario estudios más amplios para corroborar estos resultados.

## **Bibliografía:**

- (1) Rodríguez-Avial I, Culebras E, Picazo JJ. In vitro activity of telithromycin against viridans group streptococci and streptococcus bovis isolated from blood: Antimicrobial susceptibility patterns in different groups of species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005. 49; 820-823
- (2) Tomás I, Álvarez M, Limeres J. y col. In vitro activity of moxifloxacin compared to other antimicrobials against streptococci isolated from iatrogenic oral bacteremia in Spain. *Oral Microbiol Immunol.* 2004. 19; 331-335
- (3) Bascones A, Martínez A, Aguirre Urizar JM, Bermejo A. y col. Documento de consenso sobre el tratamiento antimicrobiano de las infecciones bacterianas odontogénicas. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2004. 9; 363-369.
- (4) Granizo JJ, Giménez MJ, Bascones A, Aguilar L. Impacto ecológico del tratamiento antibiótico de las infecciones odontológicas. *Rev Esp Quimioterap.* Marzo 2006. 19 (1); 14-20.
- (5) Barberán J, Giménez MJ, Aguilar L, Prieto J. Evidencia científica y concepción global del tratamiento empírico de la infección de vías respiratorias bajas en la comunidad. *Rev Esp Quimioterap.* 2004. 17; 317-324
- (6) Sullivan A, Edlund C, Nord CE. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect Dis.* 2001. 1: 101-114
- (7) Maestre JR. Infecciones bacterianas mixtas de la cavidad oral. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2002. 20(2); 98-101
- (8) Cobo J. Impacto de las políticas de antibióticos en el hospital. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005. 23(4); 183-5
- (9) Bruckner DA, Colonna P. Nomenclatura for aerobic and facultative bacteria. *Clin Infect Dis* 1997; 25:1-10.
- (10) Clarridge III, J.E., Attorri, S., Musher, D.M., Hebert, J., Dunbar, S. *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus*, and *Streptococcus anginosus* ("Streptococcus milleri group") are of different clinical importance and are not equally associated with abscess. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1511-1515
- (11) Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE (2005). Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 43:5721- 5732.
- (12) Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE (2006). The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol* 2000 42:80-87.
- (13) Huang S, Yang F, Zeng X, Chen J, Li R, Wen T, et al. (2011). Preliminary characterization of the oral microbiota of Chinese adults with and without gingivitis. *BMC Oral Health* 11:33.
- (14) Fresnadillo Martínez MJ, Blázquez de Castro AM, García Sánchez E, García Sánchez JE, García Rodríguez JA. Estado actual y perspectivas en el tratamiento antibiótico de las infecciones odontógenas. [http://www.seq.es/seq/html/revista\\_seq/0397/rev2.html](http://www.seq.es/seq/html/revista_seq/0397/rev2.html)
- (15) Hazen KC. New and emerging yeast pathogens. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:462-78.
- (16) Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: Current concepts. *J Periodontol* 1992;63:322-31.
- (17) Weinberger, M; Wu, T; Rubin, M; Gill, VJ; Pizzo, PA (1991). "Bacteremia in patients with cancer: Report of four cases and review". *Reviews of infectious diseases* 13 (2): 201–6. doi:10.1093/clinids/13.2.201. PMID 2041949)

- (18) Han XY, Kamana M, Rolston KV: Viridans streptococci isolated by culture from blood of cancer patients: clinical and microbiologic analysis of 50 cases. *J Clin Microbiol* 44:160-165, 2006
- (19) Facklam, R. What happened to the Streptococci: Overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 613- 630
- (20) Bilavsky E., Eliahou R., Keller N., et al. Effect of benzathine penicillin treatment on antibiotic susceptibility of viridans streptococci in oral flora of patients receiving secondary prophylaxis after rheumatic fever. *J Inf* (2008) 56, 244e248.
- (21) Ioannidou S., Tassios P.T., Vatopoulos A. Antibiotic resistance rates and macrolide resistance phenotypes of viridans group streptococci from the oropharynx of healthy Greek children. *Int J Antimicrob Agents* 17 (2001) 195 – 201
- (22) Guiot HFL, Corel LJA, Vossen JMJ. Prevalence of penicillin-resistant viridans streptococci in healthy children and in patients with malignant haematological disorders. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;13:645 – 50
- (23) Krumwiede E. Penicillin resistance of nonhemolytic streptococci from rheumatic children receiving prophylactic penicillin. *Pediatrics* 1949;4(5):634e42.
- (24) Garrod LP, Waterworth PM. The risks of dental extraction during penicillin treatment. *Br Heart J* 1962;24:39e46.
- (25) Doern GV, Ferraro MJ, Brueggemann AB, Buoff KL. Emergence of high rates of antimicrobial resistance among viridans group streptococci in the United States. *Antimicrobial Agents Chemother* 1996;40(4):891e4
- (26) Fleming P, Feigal RJ, Kaplan EL, Liljemark WF, Little JW. The development of penicillin-resistant oral streptococci after repeated penicillin prophylaxis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2000;70(4):440e4
- (27) Chakley LJ, Koornof HJ. Intra-and inter-specific transformation of *Streptococcus pneumoniae* to penicillin resistance. *J Antimicrob Chemother* 1999;26:21 – 8.
- (28) Dowson CJ, Coffey TJ, Kell C, Whiley RA. Evolution of penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae*: the role of *Streptococcus mitis* in the formation of a low-affinity PBP 2b in *S. pneumoniae*. *Mol Microbiol* 1993;9:635 – 43
- (29) McDermott W, Bunn PA, Benoit M, DuBois R, Reynolds ME. The absorption, excretion, and destruction of orally administered penicillin. *J Clin Invest* 1996;25(2):190e210.
- (30) Wright WW, Welch H, Wilner J, Roberts EF. Body fluid concentrations of penicillin following intramuscular injection of single doses of benzathine penicillin G and/or procaine penicillin G. *Antibiotic Med Clin Ther* 2009;6(4):232e41.
- (31) Sprunt K, Redman W, Leidy G. Penicillin resistant alpha streptococci in pharynx of patients given oral penicillin. *Pediatrics* 1998;42(6):957e68.
- (32) Durack DT. Prophylaxis of infectious endocarditis. In: Mandell GL, Bennetts JE, Dolen R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*. 6th ed. New York: Churchill Livingstone; 2004. p. 1044e52.
- (33) Warren L. *Review of Medical Microbiology and Immunology*. 12th Edition. McGraw Hill Professional. 2012. p. 115-120.
- (34) Qi F, Merritt J, Lux R, Shi W (2004). Inactivation of the *ciaH* Gene in *Streptococcus mutans* diminishes mutacin production and competence development, alters sucrose-dependent biofilm formation, and reduces stress tolerance. *Infect Immun* 72:4895-4899.
- (35) Hillman JD (1978). Lactate dehydrogenase mutants of *Streptococcus mutans*: isolation and preliminary characterization. *Infect Immun* 21:206-212.

- (36) Kolenbrander PE, Palmer Jr RJ, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell–cell distance. *Nat Rev Microbiol* 2010;8:471–80.
- (37) Alhede M, Bjarnsholt T, Jensen PO. *Pseudomonas aeruginosa* recognizes and responds aggressively to the presence of polymorphonuclear leukocytes. *Microbiology* 2009;155:3500–8
- (38) Costerton W, Veeh R, Shirtliff M, Pasmore M, Post C, Ehrlich G. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J Clin Invest* 2003;112:146–7.
- (39) Kirby AE, Garner K, Levin BR: The relative contributions of physical structure and cell density to the antibiotic susceptibility of bacteria in biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2012, 56:2967-2975 <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.06480-11>.
- (40) Tan C, Phillip Smith R, Srimani JK, Riccione KA, Prasada S, Kuehn M, You L: The inoculum effect and band-pass bacterial response to periodic antibiotic treatment. *Mol Syst Biol* 2012, 8:617 <http://dx.doi.org/10.1038/msb.2012.49>.
- (41) Anderson GG, O'Toole GA: Innate and induced resistance mechanisms of bacterial biofilms. In *Bacterial Biofilms*. Edited by Romeo T. Berlin, Heidelberg: Springer; 2008:85-105 [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3\\_5](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3_5).
- (42) Tseng BS, Zhang W, Harrison JJ, Quach TP, Song JL, Penterman J, Singh PK, Chopp DL, Packman AI, Parsek MR: The extracellular matrix protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by limiting the penetration of tobramycin. *Environ Microbiol* 2013, 15:2865-2878 <http://dx.doi.org/10.1111/1462-2920.12155>.
- (43) Johnson L, Horsman SR, Charron-Mazenod L, Turnbull AL, Mulcahy H, Surette MG, Lewenza S: Extracellular DNA-induced antimicrobial peptide resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *BMC Microbiol* 2013, 13:115 <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-13-115>.
- (44) Narisawa N, Haruta S, Arai H, Ishii M, Igarashi Y: Coexistence of antibiotic-producing and antibiotic-sensitive bacteria in biofilms is mediated by resistant bacteria. *Appl Environ Microbiol* 2008, 74:3887-3894 <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02497-07>.
- (45) Bascones A, Manso FJ. *Infecciones orofaciales: Diagnóstico y Tratamiento*. Madrid: Avances Médicos-Dentales eds. 1994: 89.-116.
- (46) Rodríguez-Avial I, Culebras E, Picazo JJ. In vitro activity of telithromycin against viridans group streptococci and streptococcus bovis isolated from blood: Antimicrobial susceptibility patterns in different groups of species. *Antimicrob Agents Chemother*.2005. 49; 820-823.
- (47) Rodríguez-Avial C, Culebras E, Picazo JJ. Distribution of tetracycline resistance genes tet(M), tet(O), tet(L) and tet(K) in blood isolates of viridans group streptococci harbouring erm(B) and mef(A) genes. Susceptibility to quinupristin/dalfopristin and linezolid. *Int J Antimicrob Agents*. 2003. 21; 536-541.
- (48) Tomás I, Limeres J, Diz P. Antibiotic prophylaxis. *BDJ* 2005. 198; 60-61.
- (49) Tomás I, Álvarez M, Limeres J. y col. In vitro activity of moxifloxacin compared to other antimicrobials against streptococci isolated from iatrogenic oral bacteremia in Spain. *Oral Microbiol Immunol*. 2004. 19; 331-335.
- (50) Bascones A, Martínez A, Aguirre Urizar JM, Bermejo A. y col. Documento de consenso sobre el tratamiento antimicrobiano de las infecciones bacterianas odontogénicas. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2004. 9; 363-369.

- (51) Albrich WC, Harbarth S. Health-care worker: source, vector, or victim of MRSA? *Lancet Infect Dis.* 2008; 8(5):289-301.
- (52) Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis.* [internet]. 2006 [acesso 12 jun 2008]; 6:130.
- (53) Sexton T, Clarke P, O'Neill E, Dilane T, Humphreys H. Environmental reservoirs of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in isolation rooms: correlation with patients isolates and implications for hospital hygiene. *J Hosp Infect.* 2006;62(2):187-94.
- (54) Small H, Casey AL, Elliott TS, Rollason J, Hilton AC, Ball S. The oral cavity: an overlooked site for MRSA screening and subsequent decolonization therapy? *J Infect.* 2007;55(4):378-9.
- (55) Smith AJ, Robertson D, Tang MK, Jackson MS, MacKenzie D, Bagg J. *Staphylococcus aureus* in the oral cavity: a three-year retrospective analysis of clinical laboratory data. *Br Dent J.* 2003;195(12):701-3.
- (56) Smith, AJ, Jackson, M, Bagg, J. The ecology of *Staphylococcus* species in the oral cavity. *J Med Microbiol.* 2001;50(11):940-6.
- (57) Almeida Cruz E, Pimenta C, Hayashida M, Eidt M, Gir E. Detección de *Staphylococcus aureus* en la boca de pacientes y trabajadores hospitalarios. *Rev. Latino-Am. Enfermagem.* jan.-feb. 2011. 9(1):[8]
- (58) Tiemarsma EW, Bronzwaer SL, Lyytikäinen O, Degener JE, Schrijnemakers P, Bruinsma N, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999-2002. *Emerg Infect Dis.* 2004;10(9):1627-34.
- (59) Gales AC, Jones RN, Pfaller MA, Gordon KA, Sader HS. Two-year assessment of the pathogen frequency and antimicrobial resistance patterns among organisms isolated from skin and soft tissue infections in Latin America hospitals: results from the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997-98. SENTRY Study Group. *Int J Infect Dis.* 2000;4(2):75-84.
- (60) Klevens RM, Edwards JR, Tenover FC, McDonald LC, Horan T, Gaynes R et al. Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units in U.S. hospitals, 1992-2003. *Clin Infect Dis.* 2006;42(3):389-91.