

Sensibilidad a antibióticos betalactámicos, glucopéptidos y aminoglucósidos en cepas comensales de estreptococos alfa-hemolíticos y *Gemella* spp. resistentes a eritromicina

Paula Cerdá-Zolezzi^a, Pilar Goñi-Cepero^a, Leticia Millán-Laplana^a, Carmen Rubio-Calvo^{a,b}, Estrella Durán^b, Mercedes Oca^b y Rafael Gómez-Lus^a

^aDepartamento de Microbiología. Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza. Zaragoza.

^bServicio de Microbiología. Hospital Clínico Lozano Blesa. Zaragoza. España.

OBJETIVO. Se investigó la sensibilidad de 190 estreptococos alfa-hemolíticos y 30 *Gemella* spp., en su mayoría comensales y resistentes a eritromicina, frente a 7 antibióticos betalactámicos, glucopépticos y aminoglucósidos.

MATERIAL Y MÉTODOS. Para determinar la sensibilidad a los antimicrobianos se utilizaron las técnicas de dilución y difusión en agar, según las normas del National Committee for Clinical Laboratory Standards/Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS/CLSI).

RESULTADOS. El 62,6% de los estreptococos alfa-hemolíticos y el 53,3% de *Gemella* spp. no fueron sensibles a penicilina (concentración inhibitoria mínima al 50% [CIM₅₀]: 0,5 µg/ml). Cefuroxima fue la cefalosporina que presentó menor actividad (CIM₅₀: 1 µg/ml y 0,5 µg/ml, en estreptococos y *Gemella* spp.), mientras que cefotaxima, ceftriaxona (CIM₅₀: 0,25 µg/ml) y cefepima (CIM₅₀: 0,5 µg/ml) presentaron una actividad superior a penicilina. El 100% de los aislamientos fueron sensibles a vancomicina, teicoplanina y gentamicina. Cuatro cepas de estreptococos alfa-hemolíticos presentaron resistencia de alto nivel a estreptomocina y tres a kanamicina. No hubo diferencia significativa en el comportamiento de los antibióticos estudiados frente a las cepas con diferente fenotipo de resistencia a macrólidos. Tanto en los aislamientos con fenotipo M como en aquéllos con fenotipo constitutivo (MLS_{Bc}) predominó la resistencia a penicilina y a otros antibióticos betalactámicos frente al patrón de resistencia, que incluye sólo penicilina o bien penicilina, otros antibióticos betalactámicos y aminoglucósidos.

CONCLUSIONES. Las tasas de resistencia a penicilina en las cepas comensales resistentes a eritromicina son particularmente elevadas, hecho que tiene una importante implicación clínica por el carácter endógeno de las infecciones causadas por estas bacterias. La menor actividad de cefuroxima podría sugerir que su utilización frente a otros patógenos preservaría en mayor grado a la microbiota orofaríngea estudiada.

Palabras clave: Estreptococos alfa-hemolíticos. *Gemella*. Betalactámicos. Glucopéptidos. Aminoglucósidos.

Susceptibility to betalactam antibiotics, glycopeptides and aminoglycosides in commensal strains of erythromycin resistant alfa-hemolytic streptococci and *Gemella* spp.

OBJECTIVE. Susceptibility to seven betalactam antibiotics, glycopeptides and aminoglycosides was investigated in 190 erythromycin-resistant alfa-hemolytic streptococci and 30 *Gemella* spp, mainly from normal flora.

MATERIAL AND METHODS. Antimicrobial susceptibility testing was performed by a standard agar diffusion test and a standard agar dilution method according to NCCLS/CLSI criteria.

RESULTS. 62.6% of alfa-hemolytic streptococci and 53.3% of *Gemella* spp. were not susceptible to penicillin (MIC₅₀: 0,5 µg/mL). Cefuroxime was the least active cephalosporin (MIC₅₀: 1 µg/mL and 0.5 µg/mL, in streptococci and *Gemella* spp., respectively), whereas cefotaxime, ceftriaxone (MIC₅₀: 0.25 µg/mL) and cefepime (MIC₅₀: 0.5 µg/mL) were more active than penicillin.

All isolates were susceptible to vancomycin, teicoplanin and gentamicin. Four alfa-hemolytic streptococcal strains showed high-level resistance to streptomycin, and three strains to kanamycin. There were no significant differences in resistance rates to the antibiotics studied between strains with different macrolide resistance phenotypes. Resistance to penicillin and other betalactam antibiotics (73.8%) was prevalent in M phenotype strains and resistance to penicillin and other classes of antibiotics predominated in constitutive (cMLS_B) strains (71.4%).

CONCLUSIONS. Resistance to penicillin in erythromycin-resistant strains was notably high in this study. This fact has important clinical implications because of the endogenous character of alfa-hemolytic streptococcal and *Gemella* spp. infections. The lower cefuroxime activity suggests that use of this agent against other pathogens would be effective in preserving the oropharyngeal microflora analyzed.

Key words: Alfa-hemolytic streptococci. *Gemella*. Betalactams. Glycopeptides. Aminoglycosides.

Correspondencia: Dr. R. Gómez-Lus.
Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina.
Universidad de Zaragoza.
Domingo Miral, s/n. 50009 Zaragoza. España.
Correo electrónico: gomezlus@unizar.es

Manuscrito recibido el 7-7-2006; aceptado el 15-3-2007.

Introducción

Los estreptococos del grupo *viridans* (EGV) y *Gemella* spp. son habitantes normales de la mucosa oral, respiratoria y gastrointestinal de los mamíferos y del tracto genital de la mujer. Son bacterias con un grado bajo de virulencia, aunque son capaces de producir infecciones graves como resultado de la presencia de estos microorganismos fuera de su hábitat normal¹⁻³.

La existencia y preservación de una microbiota amigdalofaríngea normal se considera de gran importancia, ya que actúa como un mecanismo protector frente a la invasión de los estreptococos del grupo A. Destaca principalmente la capacidad de los estreptococos alfa-hemolíticos para inhibir a *Streptococcus pyogenes* por medio de bacteriocinas⁴.

Hasta 1979, los EGV se comportaban como uniformemente sensibles a los antibióticos betalactámicos. En esa fecha, Bourgault et al⁵ describieron dos cepas, una de *S. mitis* y otra de *S. milleri* con resistencia a penicilina. A partir de ahí, y especialmente en la década de 1990, la resistencia a penicilina en EGV se ha ido incrementando y diseminando rápidamente⁶⁻⁹. *Gemella* spp. parece ser muy sensible a penicilina, aunque en diferentes casos clínicos se ha comunicado el aislamiento de cepas con sensibilidad intermedia¹⁰⁻¹².

El tratamiento de las infecciones producidas por los EGV y *Gemella* spp. se establece según la sensibilidad del microorganismo a penicilina. La mayoría de los casos de endocarditis se tratan eficazmente con una combinación de penicilina y un aminoglucósido. Para cepas con alto nivel de resistencia a penicilina (concentración inhibitoria mínima [CIM] $\geq 4 \mu\text{g/ml}$) y con resistencia a cefalosporinas de tercera generación se utiliza vancomicina, sola o con otros antibióticos^{2,13}.

En este trabajo se investigó la sensibilidad de 220 cepas de estreptococos alfa-hemolíticos y *Gemella* spp., en su mayoría comensales orofaríngeas, con diferentes fenotipos de resistencia a macrólidos, frente a 7 antibióticos betalactámicos. También se estudió la sensibilidad de este grupo de bacterias a otros agentes antimicrobianos usados en el tratamiento de las endocarditis infecciosas, como glucopéptidos y aminoglucósidos.

Material y métodos

Cepas bacterianas

Se aislaron 305 cocos alfa-hemolíticos a partir de muestras clínicas en el Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, durante los años 2001 y 2002. Se seleccionaron 219 cepas pertenecientes a 212 pacientes, que presentaban sensibilidad disminuida a eritromicina mediante la técnica de disco placa y de dilución en agar (CIM: $\geq 0,5 \mu\text{g/ml}$). En estas 219 cepas estaban incluidas 216 bacterias comensales (frotis faríngeo [97], esputo [60], broncoaspirado [25], frotis nasal [15], el resto de frotis bucal, ótico, etc.), 2 aislamientos de hemocultivos y 1 aislamiento de frotis conjuntival. También se incluyó una cepa clínica de *Gemella morbillorum* aislada de un absceso pulmonar en el Laboratorio de Biología del Centro Hospitalario de Cahors, Francia (amablemente cedida por el doctor Alain Le Coustumier). Los fenotipos y genotipos de resistencia frente a antibióticos macrólidos de las cepas objeto de estudio fueron previamente estudiados y publicados¹⁴, y se obtuvieron los siguientes resultados: de las 220 cepas, 131 presentaban fenotipo de resistencia a macrólidos M

y eran portadoras del gen *mef(A)*; 61, el fenotipo MLS_{BC}, y 28, el fenotipo MLS_{Bi}. Estos últimos dos grupos tenían el gen *erm(B)* solo o en combinación con el gen *mef(A)* en el 43,8% de los aislamientos.

Identificación

La identificación bacteriana se realizó teniendo en cuenta la morfología de la colonia, la alfa-hemólisis, la sensibilidad a optoquina y la tinción de Gram. La identificación de la especie se llevó a cabo utilizando el kit API20 Strep System (API System, bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France). Los aislamientos se asignaron a grupos y especies según el criterio de Facklam¹⁵. Las diferentes cepas pertenecientes a un mismo paciente se diferenciaron mediante la identificación de especie, el fenotipo y genotipo de resistencia antimicrobiana y/o la electroforesis en campo pulsado.

Sensibilidad a los antimicrobianos

Se determinó la sensibilidad a los siguientes antibióticos betalactámicos mediante la técnica de dilución en agar siguiendo las recomendaciones del NCCLS¹⁶: penicilina, amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona y cefepima y a los glucopéptidos vancomicina y teicoplanina. Debido a la ausencia de criterios interpretativos para *Gemella* spp., se tuvieron en cuenta los establecidos para los estreptococos alfa-hemolíticos, considerando las similitudes entre ambos grupos bacterianos. Para la determinación de la CIM de amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulánico y cefuroxima, se tuvieron en cuenta los puntos de corte definidos por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS/CLSI)¹⁶ para *S. pneumoniae*.

Para la determinación de la sensibilidad a los aminoglucósidos eritromicina, gentamicina y kanamicina se realizaron las técnicas de difusión con discos comerciales (Bio-Rad, La Coquette, Francia) y dilución en agar^{16,17}. La resistencia de alto nivel a los antibióticos aminoglucósidos se definió como la que presentaron aquellas cepas con una CIM igual o superior a $512 \mu\text{g/ml}$, con la excepción de eritromicina, para la que se tomó como concentración crítica una CIM igual o superior a $1.024 \mu\text{g/ml}$.

Resultados

Un total de 189 de los 219 cocos alfa-hemolíticos resistentes a eritromicina seleccionados fueron identificados como EGV: 138 *S. mitis*, 37 *S. oralis*, 7 *S. sanguinis*, 5 *S. salivarius*, 1 *S. anginosus* y 1 *S. intermedius*; 29 como *Gemella* spp.: 16 *G. morbillorum* y 13 *G. haemolysans*, y 1 como *S. acidominimus*.

Los valores obtenidos para la CIM₅₀ y la CIM₉₀ para los estreptococos alfa-hemolíticos y para *Gemella* spp. frente a penicilina se muestran en la tabla 1.

En los EGV, *S. sanguinis* fue la especie más sensible a penicilina (57,1%), y no se encontró ninguna cepa con resistencia de alto nivel (CIM₅₀, $0,12 \mu\text{g/ml}$) y *S. salivarius* la que menos, con la totalidad de los aislamientos resistencia o resistencia intermedia a dicho antimicrobiano (CIM₅₀, $2 \mu\text{g/ml}$). El porcentaje de cepas con sensibilidad a penicilina fue mayor en *S. oralis* (56,8%) que en *S. mitis* (35,5%), con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). La cepa de *S. mitis* aislada de un frotis conjuntival y el aislamiento de hemocultivo de *S. sanguinis* fueron sensibles a penicilina (CIM, $\leq 0,03$ y $0,06 \mu\text{g/ml}$, respectivamente), a diferencia de la cepa de *S. mitis* de hemocultivo que presentó resistencia intermedia (CIM, $0,5 \mu\text{g/ml}$). De las dos especies de *Gemella* estudiadas, *G. haemolysans* fue más resistente a penicilina (el 61,5% de cepas con resistencia de alto nivel), que *G. morbillorum* (17,6% de cepas con resistencia de alto nivel), con una

Tabla 1. Actividad de los distintos antimicrobianos analizados en los estreptococos alfa hemolíticos y *Gemella* spp.

ATB	Rango (µg/ml)	CIM ₅₀ (µg/ml)	CIM ₉₀ (µg/ml)	Moda (µg/ml)	S (%)	I (%)	R (%)
Estreptococos alfa hemolíticos (n = 190)							
Pen	≤ 0,03->32	0,5	16	≤ 0,03	37,4	30,5	32,1
Amx	≤ 0,03->32	1	32	32	56,8	10,5	32,7
Amc	≤ 0,03->32	2	32	16	56,8	9,5	33,7
Cxm	≤ 0,03->32	1	32	0,5	45,3	8,9	45,7
Ctx	≤ 0,03-32	0,25	8	0,12	69,5	8,9	21,6
Cro	≤ 0,03-16	0,25	4	≤ 0,03	73,7	11,0	15,3
Fep	≤ 0,03-16	0,5	4	0,25	61,6	15,3	23,1
Van	≤ 0,12-0,5	0,5	0,5	0,5	100	0	0
Tec	≤ 0,12-0,5	≤ 0,12	0,25	≤ 0,12	100	0	0
<i>Gemella</i> spp. (n = 30)							
Pen	≤ 0,03-32	0,5	8	≤ 0,03	46,7	16,7	36,6
Amx	≤ 0,03->32	0,5	32	0,12	56,7	6,7	36,7
Amc	≤ 0,03->32	0,5	> 32	-	56,7	10,0	33,3
Cxm	≤ 0,03->32	0,5	16	-	50,0	6,7	43,3
Ctx	≤ 0,03-16	0,25	4	≤ 0,03	66,7	10,0	23,3
Cro	≤ 0,03-16	0,25	2	≤ 0,03	80,0	10,0	10,0
Fep	≤ 0,03-16	0,5	4	0,25; 2	53,3	20,0	26,7
Van	≤ 0,12-1	0,25	0,5	0,25	100	0	0
Tec	≤ 0,12-0,25	≤ 0,12	0,25	≤ 0,12	100	0	0

Amc: amoxicilina-ácido clavulánico; Amx: amoxicilina; ATB: antibiótico; CIM: concentración inhibitoria mínima; Cro: ceftriaxona; Ctx: cefotaxima; Cxm: cefuroxima; Fep: cefepima; I: cepas con resistencia intermedia al antimicrobiano; Pen: penicilina; R: cepas resistentes al antimicrobiano; S: cepas sensibles al antimicrobiano; Tec: teicoplanina; Van: vancomicina.

CIM₅₀ de 4 µg/ml para la primera y de 0,12 µg/ml para la segunda. La cepa de *G. morbillorum* aislada de un absceso pulmonar fue sensible a penicilina (CIM: 0,12 µg/ml).

En los estreptococos alfa hemolíticos el valor de CIM₅₀ para amoxicilina y amoxicilina-ácido clavulánico fue mayor que el hallado para penicilina (CIM₅₀, 1 y 2 µg/ml, respectivamente), mientras que en *Gemella* spp. el valor de CIM₅₀ fue el mismo. Las tasas de resistencia a estos dos antimicrobianos fueron comparables a las de penicilina (tabla 1).

Cefotaxima, ceftriaxona y cefepima tuvieron una actividad superior a penicilina. Ceftriaxona fue el antibiótico betalactámico más activo, con una CIM₅₀ de 0,25 µg/ml. Resultaron sensibles el 73,7% de las cepas de estreptococos alfa hemolíticos y el 80,0% de las cepas de *Gemella* spp. De las cefalosporinas ensayadas, cefuroxima fue la de menor actividad (CIM₅₀, 1 µg/ml y 0,5 µg/ml en estreptococos alfa hemolíticos y *Gemella* spp., respectivamente). El número de aislamientos resistentes fue superior a cefuroxima (100 cepas) que a penicilina (72 cepas) (tabla 1).

No hubo diferencia significativa en el comportamiento de los antibióticos betalactámicos para los diferentes fenotipos de resistencia a macrólidos, aunque en los estreptococos alfa hemolíticos el porcentaje de cepas sensibles fue ligeramente superior en el grupo de cepas con fenotipo M, que en el de aislamientos con fenotipo MLS_{BC} (tabla 2).

En los cocos alfa hemolíticos resistentes a eritromicina la disminución de la sensibilidad a penicilina estuvo acompañada en el 96,1% de las cepas, de resistencia o resistencia intermedia a otros antimicrobianos. El 50,8% (65 cepas) eran resistentes a otros antibióticos betalactámicos y el 0,78% (1 cepa) resistentes a antibióticos aminoglucósidos. El 5,5% de las cepas presentaron resistencia simultánea

a antibióticos betalactámicos y aminoglucósidos. Únicamente 5 cepas de EGV fueron sólo resistentes a macrólidos y penicilina.

Tanto en los estreptococos alfa hemolíticos como en *Gemella* spp. la disminución de la sensibilidad a cefotaxima, ceftriaxona y cefepima estuvo siempre acompañada de resistencia o resistencia intermedia a penicilina. En cambio, 9 cepas de estreptococos (5 con fenotipo M y una con fenotipo MLS_{BC}) y una cepa de *Gemella* spp. (fenotipo MLS_{BC}) presentaron solamente disminución de la sensibilidad a cefuroxima y un *S. oralis* a amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulánico y cefuroxima.

Las cepas de estreptococos alfa hemolíticos y *Gemella* spp. estudiadas fueron sensibles a vancomicina y a teicoplanina (tabla 1). Los valores de CIM₅₀ y CIM₉₀ frente a ambos antibióticos no variaron significativamente entre los distintos fenotipos de resistencia a macrólidos, ni entre las distintas especies bacterianas (tabla 2).

De los aminoglucósidos estudiados, gentamicina fue el que mejor actividad tuvo sobre este grupo de bacterias, ya que ninguna cepa era resistente de alto nivel a la misma. Tres cepas presentaron resistencia de alto nivel a kanamicina: dos *S. oralis* con fenotipo MLS_{BC} y una *S. mitis* con fenotipo MLS_{BI} (CIM, 8192 µg/ml). Para estreptomycinina, seis cepas (dos *S. oralis* y cuatro *S. mitis*) presentaron resistencia de alto nivel (CIM: ≥ 4.096 µg/ml).

Discusión

Se ha demostrado que los estreptococos alfa hemolíticos desempeñan un papel importante como barrera frente a la invasión de los estreptococos del grupo A, impidiendo la colonización, compitiendo e interfiriendo con su crecimiento⁴. La administración de agentes antimicrobianos puede influir en la composición de la microbiota orofaríngea¹⁸, de la cual estas bacterias y *Gemella* spp. forman parte. Los antibióticos que son activos frente a *S. pyogenes*, como los betalactámicos, también pueden contribuir a la erradicación de los cocos alfa hemolíticos. En este trabajo hemos analizado la actividad de siete antibióticos betalactámicos, en un grupo heterogéneo de cocos alfa hemolíticos en su mayoría comensales del tracto respiratorio y resistentes a eritromicina.

En los EGV analizados hemos detectado el 62,6% de cepas no sensibles a penicilina. Dicha resistencia fue más alta que la comunicada por otros autores en aislamientos de la microbiota en Finlandia (16,8%)⁹ y en Grecia (43%)⁸. Sin embargo, Achour et al¹⁹, en cepas principalmente de nasofaringe de pacientes con cáncer y neutropenia, encontraron que el 83% de las cepas de *S. mitis* era no sensible a penicilina. De 157 cepas de EGV comensales y resistentes a eritromicina estudiadas, Malhotra-Kumar et al²⁰ observaron la presencia de resistencia a penicilina solamente en un aislamiento con fenotipo MLS_{BC}. En cepas clínicas de EGV, fundamentalmente en las aisladas de sangre de pacientes con endocarditis infecciosa, también se han detectado elevadas tasas de resistencia a penicilina, con porcentajes que varían del 11,2% al 58,0%^{6,7,21-24}. De los tres aislamientos clínicos de nuestro estudio, dos fueron sensibles y uno tenía resistencia intermedia a penicilina.

Tabla 2. Actividad de los distintos antimicrobianos analizados en las cepas de estreptococos alfa hemolíticos y *Gemella* spp., según el fenotipo de resistencia a macrólidos

ATB	Estreptococos alfa hemolíticos						<i>Gemella</i> spp.					
	Rango/M (µg/ml)	CIM ₅₀ (µg/ml)	CIM ₉₀ (µg/ml)	S (%)	I (%)	R (%)	Rango/M (µg/ml)	CIM ₅₀ (µg/ml)	CIM ₉₀ (µg/ml)	S (%)	I (%)	R (%)
	M* (n = 113)						M* (n = 18)					
Pen	≤ 0,03->32/≤0,03	0,5	16	41,6	26,5	31,9	≤ 0,03-32/≤0,03	0,12	32	50	16,7	33,3
Amx	≤ 0,03->32/32	1	32	59,3	9,7	31,0	≤ 0,03->32	0,5	> 32	55,6	-	44,4
Amc	≤ 0,03->32/0,12-1	1	32	58,4	8,8	32,7	≤ 0,03->32	0,5	> 32	55,6	5,6	38,9
Cxm	≤ 0,03->32/0,25	1	32	47,8	8,8	43,4	≤ 0,03->32/≤0,03, 0,5	0,5	> 32	50,0	5,6	44,4
Ctx	≤ 0,03-16/≤0,03	0,25	8	70,8	8,8	20,4	≤ 0,03-16/≤0,03	0,25	16	66,7	11,1	22,2
Cro	≤ 0,03-8/≤0,03-0,06	0,25	4	73,5	10,6	15,9	≤ 0,03-16/≤0,03	0,5	16	83,3	5,6	11,1
Fep	≤ 0,03-16/0,25, 0,5	0,5	8	64,6	13,3	22,1	≤ 0,03-16/2	0,5	16	50,0	2,2	27,8
Van	≤ 0,12-0,5/0,5	0,5	0,5	100	-	-	0,25-0,5/0,25	0,25	0,5	100	-	-
Tec	≤ 0,12-0,5/≤0,12	≤ 0,12	0,25	100	-	-	≤ 0,12-0,25/≤0,12	≤ 0,12	≤ 0,12	100	-	-
	MLS_{Bc}* (n = 51)						MLS_{Bc}* (n = 10)					
Pen	≤ 0,03-16/≤0,03	1	16	35,3	33,3	31,4	≤ 0,03-8/0,12, 4	0,12	4	50,0	10,0	40,0
Amx	≤ 0,03-32/16	4	32	49,0	13,7	37,3	0,12-32	0,5	16	60,0	20,0	20,0
Amc	≤ 0,03-32/16, 32	2	32	52,9	9,8	37,3	≤ 0,03->32	0,5	16	60,0	20,0	20,0
Cxm	≤ 0,03->32/0,25, 4	2	32	39,2	9,8	51,0	0,12-32/0,25, 16	0,5	16	50,0	10,0	40,0
Ctx	≤ 0,03-32/0,25	0,5	8	62,7	11,8	25,5	0,06-8/0,06	0,25	4	70,0	-	30,0
Cro	≤ 0,03-16/0,12	0,25	4	70,6	11,6	17,6	≤ 0,03-4	0,12	2	80,0	10,0	10,0
Fep	≤ 0,03-8/4	1	4	52,9	15,7	31,4	0,12-8/0,25	0,5	4	60,0	20,0	20,0
Van	≤ 0,12-0,5/0,5	0,5	0,5	100	-	-	≤ 0,12-1/0,25, 0,5	0,25	0,5	100	-	-
Tec	≤ 0,12-0,25/≤0,12	≤ 0,12	0,25	100	-	-	≤ 0,12-0,25/≤0,12	≤ 0,12	0,25	100	-	-
	MLS_{Bi}* (n = 26)						MLS_{Bi}* (n = 2)					
Pen	≤ 0,03-32/32	1	8	23,1	42,3	34,6	1-4	-	-	-	50,0	50,0
Amx	≤ 0,03->32/0,12, 2	2	32	61,5	7,7	30,8	0,06-32	-	-	50,0	-	50,0
Amc	≤ 0,03->32/0,12	2	32	57,7	11,5	30,8	0,06->32	-	-	50,0	-	50,0
Cxm	0,12->32/0,5	1	32	46,2	7,7	46,2	≤ 0,03-8	-	-	50,0	-	50,0
Ctx	≤ 0,03-16/0,12	0,25	8	76,9	3,8	19,3	≤ 0,03-2	-	-	50,0	50,0	-
Cro	≤ 0,03-8/0,5	0,12	2	80,8	11,5	7,7	≤ 0,03-2	-	-	50,0	50,0	-
Fep	≤ 0,03-16/2	0,25	4	65,4	23,1	11,5	0,12-4	-	-	50,0	-	50,0
Van	≤ 0,12-0,5/0,5	0,25	0,5	100	-	-	0,25-0,5	-	-	100	-	-
Tec	≤ 0,12-0,25/≤0,12	≤ 0,12	≤ 0,12	100	-	-	≤ 0,12	-	-	100	-	-

*Fenotipos de resistencia a macrólidos.

Amc: amoxicilina-ácido clavulánico; Amx: amoxicilina; ATB: antibiótico; CIM: concentración inhibitoria mínima; Cro: ceftriaxona; Ctx: cefotaxima; Cxm: cefuroxima; Fep: cefepima; I: cepas con resistencia intermedia al antimicrobiano; M: moda; Pen: penicilina; R: cepas resistentes al antimicrobiano; S: cepas sensibles al antimicrobiano; Tec: teicoplanina; Van: vancomicina.

De las especies estudiadas, *S. salivarius* fue la menos sensible, seguida de *S. mitis* y *S. sanguinis* como la más sensible. *S. mitis* fue la especie más prevalente en nuestro estudio y, por lo tanto, tuvo una gran influencia en la sensibilidad global a penicilina. En la mayoría de los estudios, *S. mitis* fue la especie con menor sensibilidad a penicilina^{7,9,21,24}, aunque también dicha resistencia fue muy común en *S. salivarius*^{21,24}. La resistencia a penicilina varía según el conjunto de especies estudiadas. De esta forma en aquellos trabajos en los que *S. mitis* fue más prevalente, se han observado tasas más elevadas⁷, mientras que en los estudios en los que *S. sanguinis* fue la especie más frecuentemente aislada, se obtuvieron tasas menores de resistencia a penicilina²¹.

En *Gemella* spp., la sensibilidad a penicilina fue del 46,7%. Buu Hoi et al¹⁰ estudiaron un total de cinco cepas, de las que todas resultaron sensibles a penicilina, ampicilina, cefalotina y cefotaxima. Más recientemente, Woo et al¹² analizaron tres cepas de *Gemella* spp., de las cuales solamente un aislamiento de *G. haemolysans* con fenotipo de resistencia a macrólidos M presentó resistencia intermedia a penicilina. Por otra parte, Iglesias et al¹¹ comuni-

caron un aislamiento de *G. haemolysans* con sensibilidad intermedia a penicilina de un paciente con endocarditis. Analizando la escasa bibliografía encontrada en conjunto con nuestros datos, y a pesar de que el número de aislamientos es limitado, se observa que igual que sucedió en EGV, la resistencia a penicilina en *Gemella* spp. se ha incrementado y diseminado a lo largo del tiempo.

El mecanismo de resistencia a este antibiótico en *S. pneumoniae* y EGV se debe a alteraciones en las proteínas ligadas a penicilina (PBP), y son fundamentales los genes mosaico, resultado de la recombinación homóloga con ADN de especies estrechamente relacionadas. Varios estudios *in vitro*^{25,26} han demostrado la transferencia potencial de los determinantes de resistencia entre EGV, especialmente entre *S. mitis* y *S. pneumoniae*. Esto, junto con la presión selectiva ejercida por el antibiótico, puede desempeñar un importante papel en la emergencia y diseminación de la resistencia a penicilina en EGV y *S. pneumoniae*.

En los EGV, los valores de CIM₅₀ para amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulánico fueron más elevados que los encontrados para penicilina. Estos datos son coincidentes

con los resultados obtenidos por Alcaide et al⁶ en EGV aislados de sangre. Sin embargo, Doern et al²¹ comunicaron que las CIM para amoxicilina fueron la mitad de las halladas para penicilina en EGV sensibles o con resistencia intermedia a penicilina, y que para las cepas resistentes la actividad de ambos antimicrobianos fue similar.

Cefotaxima, ceftriaxona y cefepima tuvieron una actividad superior a penicilina en todos los aislamientos analizados. En diferentes estudios, ceftriaxona y cefotaxima mostraron una actividad superior a la de penicilina, y todas las cepas con sensibilidad a penicilina eran sensibles a las mismas^{7,8,23}. A diferencia de nuestros resultados, Alcaide et al⁶ observaron que cefotaxima, ceftriaxona y cefepima presentaban en aislamientos de EGV de sangre una actividad similar a la de penicilina. Cefuroxima fue el antibiótico betalactámico que menor actividad tuvo frente a las cepas comensales analizadas. En un estudio *in vivo*, Brook y Foote¹⁸ compararon dos modelos de terapia para la faringitis recurrente producida por estreptococos del grupo A, uno usando penicilina y otro una cefalosporina de segunda generación. Los resultados que obtuvieron demostraron que esta última fue más efectiva, al erradicar las bacterias patógenas y preservar a los estreptococos alfa-hemolíticos que pueden inhibir a *S. pyogenes*.

No observamos diferencias en la distribución de la resistencia a los antibióticos betalactámicos estudiados entre las cepas que poseían diferentes fenotipos de resistencia a macrólidos, aunque para el total de los aislamientos hubo una ligera tendencia a ser más sensibles entre aquéllas con fenotipo M. Sin embargo, Seppälä et al⁹ observaron una diferencia más importante entre las cepas de EGV con fenotipo M y MLS_B, ya que en las primeras la resistencia intermedia a penicilina fue del 10,3% y en las segundas del 57,1%.

En *S. pneumoniae* se ha comprobado que las cepas con resistencia a penicilina tienden a ser más resistentes a otros antimicrobianos, como eritromicina^{27,28}. Asimismo, Uh et al²³ encontraron que los EGV procedentes de hemocultivos no sensibles a penicilina presentaban mayor resistencia a eritromicina, clindamicina y cefotaxima que los sensibles. Sin embargo, De Azavedo et al²² observaron en 418 cepas clínicas que la resistencia a otros antimicrobianos era relativamente alta tanto en aislamientos sensibles como resistentes a penicilina. En los cocos alfa-hemolíticos resistentes a eritromicina estudiados, la disminución de la sensibilidad a penicilina estuvo en el 96,1% asociada a resistencia a otros agentes antimicrobianos, especialmente a otros antibióticos betalactámicos. Además, en las cepas con fenotipo MLS_B se encontró asociada a resistencia a otras moléculas de antimicrobianos de distinta familia, quizá debido a la diseminación de los genes de resistencia a macrólidos y a otros antibióticos que se encuentran en transposones conjugativos cromosómicos (TCC), en cepas ya resistentes a penicilina.

En neumococos, Navarro et al²⁹ sugieren la hipótesis ya conocida de la corresistencia a penicilina y eritromicina, la cual se debería a que los clones de neumococos ya resistentes a penicilina han soportado la presión selectiva de los macrólidos, adquiriendo genes de resistencia a los mismos y a antibióticos, como tetraciclina, que se encuentran en TCC. Así, en la práctica clínica se produciría una selección inicial de bacterias tolerantes, base para la selección de mutantes resistentes o para la adquisición de ge-

nes de resistencia de otras especies bacterianas. Dicha explicación podría ser aplicada a las cepas con resistencia a penicilina y eritromicina, y explicaría el hecho de que la mayoría de las cepas con fenotipo MLS_B posea además de la resistencia a penicilina, resistencia a otros antimicrobianos de diferente familia.

La resistencia a penicilina en EGV y *Gemella* spp. encontrada en este estudio es particularmente alta, lo que tiene una importante implicación clínica debido al carácter endógeno que presentan las infecciones producidas por estas bacterias. Por otro lado, y coincidiendo con diferentes autores^{9,10,12,19}, vancomicina y teicoplanina, que se utilizan como tratamiento alternativo, han tenido una actividad excelente. Tampoco se ha observado resistencia de alto nivel a gentamicina, aminoglucósido utilizado en combinación con un betalactámico en la terapéutica^{2,13}. No obstante, la mayoría de los aislamientos con resistencia de alto nivel a kanamicina y estreptomina lo fueron también a penicilina. Debido a la baja sensibilidad a penicilina encontrada, la elección de una cefalosporina como ceftriaxona constituiría una alternativa razonable para el tratamiento de las endocarditis, mientras que, por otro lado, los datos obtenidos *in vitro* sugieren que cefuroxima afectaría en menor grado a la microbiota orofaríngea analizada.

Financiación

Este trabajo ha sido financiado mediante los proyectos FIS Project PI052310 (Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud) y B24, Grupos Consolidados: Ecología de la resistencia bacteriana de la Diputación General de Aragón. Paula Cerdá Zolezzi disfrutó de una beca de la Diputación General de Aragón (B102/2003).

Bibliografía

1. Finegold SM, Baron EJ. Estreptococos, con inclusión de enterococos y neumococos y *Aerococcus*. En: Bailey WR, Scott EG, editores. Diagnóstico microbiológico. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1989. p. 348-66.
2. Rodríguez-Avial C, Rodríguez-Avial I, Picazo JJ. Estreptococos del grupo viridans: resistencia antimicrobiana e impacto. En: Bouza E, Picazo JJ, editores. Infección. Bilbao: Servisistem; 2003. p. 145-76.
3. Espinosa-Villarreal JG, González-Reimers E, Lecuona M, Rodríguez-Gaspar M, López-Lirola AM, Rodríguez-Moreno F, et al. Endocarditis por *Gemella morbillorum*. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2000;18:293-4.
4. Crowe CC, Sanders WE Jr, Longley S. Bacterial interference. II. Role of the normal throat flora in prevention of colonization by group A *Streptococcus*. J Infect Dis. 1973;128:527-32.
5. Bourgault AM, Wilson WR, Washington JA. Antimicrobial susceptibilities of species of viridans streptococci. J Infect Dis. 1979;140:316-21.
6. Alcaide F, Liñares J, Pallares R, Carratalà J, Benítez MA, Gudiol F, et al. *In vitro* activities of 22 betalactam antibiotics against penicillin-resistant and penicillin-susceptible viridans group streptococci. Antimicrob Agents Chemother. 1995;39:2243-7.
7. Tuohy M, Washington JA. Antimicrobial susceptibility of viridans group streptococci. Diagn Microbiol Infect Dis. 1997;29:277-80.
8. Ioannidou S, Tassios PT, Kotsovili-Tseleni A, Foustoukou M, Legakis NJ, Vatopoulou A. Antibiotic resistance rates and macrolide resistance phenotypes of viridans group streptococci from the oropharynx of healthy Greek children. Int J Antimicrob Agents. 2001;17:195-201.
9. Seppälä H, Haamperä M, Al-Juhaish M, Järvinen H, Jalava J, Huovinen P. Antimicrobial susceptibility patterns and macrolide resistance genes of viridans group streptococci from normal flora. J Antimicrob Chemother. 2003;52:636-44.
10. Buu-Hoi A, Sapotera A, Branger C, Acar JF. Antimicrobial susceptibility of *Gemella haemolysans* isolated from patients with subacute endocarditis. Eur J Clin Microbiol. 1982;1:102-106.
11. Iglesias LA, López-Lopategui MC, Almagro F, Beristain X, Vidal MA. Endocarditis por *Gemella haemolysans*. Enferm Infecc Microbiol Clin. 1999;10:76-7.

12. Woo PCY, To APC, Lau SKP, Fung AMY, Yuen K. Phenotypic and molecular characterization of erythromycin resistance in four isolates of *Streptococcus*-like gram-positive cocci causing bacteremia. *J Clin Microbiol.* 2004;42:3303-5.
13. Le T, Bayer AS. Combination antibiotic therapy for infective endocarditis. *Clin Infect Dis.* 2003;36:615-21.
14. Cerdá Zolezzi P, Millán Laplana L, Rubio Calvo M, Goñi Cepero P, Canales Erazo M, Gómez-Lus R. Molecular basis of resistance to macrolides and other antibiotics in commensal viridans group streptococci and *Gemella* spp. and its transfer to *S. pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:3462-7.
15. Facklam R. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15:613-30.
16. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 6th ed. Approved Standard M7-A6. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2003.
17. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. 8th ed. Approved Standard M2-A8. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2003.
18. Brook I, Foote PA. Effect of penicillin or cefprozil therapy on tonsillar flora. *J Antimicrob Chemother.* 1997;40:725-8.
19. Achour W, Guenni O, Malbrunq B, Canu A, Leclercq R, Hassen AB. Phenotypic and molecular characterization of macrolide and streptogramin resistance in *Streptococcus mitis* from neutropenic patients. *J Antimicrob Chemother.* 2004;54:117-21.
20. Malhotra-Kumar S, Lammens C, Martel A, Mallentjer C, Chapelle S, Verhoeven J, et al. Oropharyngeal carriage of macrolide-resistant viridans group streptococci: a prevalence study among healthy adults in Belgium. *J Antimicrob Chemother.* 2004;53:271-6.
21. Doern GV, Ferraro MJ, Brueggemann AB, Ruoff KL. Emergence of high rates of antimicrobial resistance among viridans group streptococci in US. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40:891-4.
22. De Azavedo JCS, Trpeski L, Pong-Porter S, Matsumura S, Low DE. *In vitro* activities of fluorquinolones against antibiotic-resistant blood culture isolates of viridans group streptococci from across Canada. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:2299-301.
23. Uh Y, Shin DH, Jang IH, Hwang GY, Lee MK, Yoon KJ, et al. Antimicrobial susceptibility patterns and macrolide resistance genes of viridans group streptococci from blood cultures in Korea. *J Antimicrob Chemother.* 2004;53:1095-7.
24. Rodríguez-Avial I, Rodríguez-Avial C, 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;49:820-3.
25. Dowson CG, Hutchison A, Woodford N, Johnson AP, George RC, Spratt BG. Penicillin-resistant viridans streptococci have obtained altered penicillin-binding protein genes from penicillin-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87:5858-62.
26. Potgieter E, Chalkley LJ. Reciprocal transfer of penicillin resistance genes between *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mitior*, and *Streptococcus sanguis*. *J Antimicrob Chemother.* 1991;28:463-5.
27. Gómez-Lus R, Adrián F, Gómez-Lus S, Rubio-Calvo MC. Presión selectiva antibiótica y resistencia en infecciones por *Streptococcus pneumoniae*. *Med Clin (Barc).* 1998;110:3-7.
28. Baquero F, Baquero-Artigao G, Cantón R, García-Rey C. Antibiotic consumption and resistance selection in *Streptococcus pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother.* 2002;50:27-37.
29. Navarro C, Egido P, Aspiroz C, Durán E, García C, Rubio C, Gómez-Lus R. Resistencia a penicilina y otros antimicrobianos en 301 aislamientos clínicos de *Streptococcus pneumoniae*. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2000;18:314-8.