

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA



**ESTUDIO COMPARATIVO DE DIFERENTES METODOS PARA
EL AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE ESTREPTOCOCO
BETA HEMOLITICO**

T E S I S

María Eugenia Teofila del Perpetuo Socorro Reyes Trujillo

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE

CAPITULO		PAGINA
1	INTRODUCCION	1
2	GENERALIDADES	4
3	METODOLOGIA	47
4	RESULTADOS	69
5	DISCUSION DE RESULTADOS	75
6	RESUMEN	80
7	BIBLIOGRAFIA	82

1.- INTRODUCCION

Es conocido el hecho, que de las infecciones por ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A", es difícil su aislamiento - en el laboratorio, casi siempre el médico se guía por los síntomas y signos clínicos y por lo general omite el tratamiento adecuado o bien abusa de medicamentos innecesarios para la erradicación del microorganismo.

Es necesario identificar en el laboratorio al ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A", ya que se trata de un microorganismo relativamente difícil de cultivar y su identificación permitirá el diagnóstico en la clínica.

Recientemente en Nakamiso y Sato (38) diseñaron dos medios de cultivo que permiten un mejor aislamiento e identificación - de este microorganismo patógeno, sin importar que el paciente - haya sido sometido previamente a un tratamiento antimicrobiano.

Estos medios de cultivo son de fácil preparación en el laboratorio y permiten la rápida observación e identificación del microorganismo, además su naturaleza selectiva impide el crecimiento de toda la flora nasofaríngea, excepto los ESTREPTOCOCOS ALFA y BETA HEMOLITICOS, facilitándose con esto la observación e interpretación de los resultados obtenidos.

En la actualidad hay muchos métodos de pruebas rápidas para la identificación del ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A", pero estos son caros y difíciles de llevarse a cabo en un laboratorio clínico particular o en laboratorios de diagnóstico médico de naturaleza masiva.

El presente trabajo consistió en el estudio, preparación y comparación de tres métodos y medios de cultivo para el aislamiento del ESTREPTOCOCCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A", a partir de exudados faríngeos.

Estos fueron los siguientes:

- a) Método del Medio de Gelosa Sangre de carnero.
- b) Métodos de los medios de cultivo de Caldo enriquecido con Ureasa y Medio Modificado de Agar Infusión de Corazón de Nakamiso y Sato (38).
- c) El método anterior (b) Modificado al presente trabajo, con el propósito de tratar de facilitar el aislamiento del microorganismo en el menor tiempo posible.

Los objetivos principales de este trabajo fueron, probar la efectividad de estos métodos y medios de cultivo en el mayor incremento, aislamiento e identificación del ESTREPTOCOCCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A", en exudados faríngeos de pacientes -- sin y con tratamiento de antibióticos; así mismo compararlos -- con el método de Gelosa Sangre de carnero por ser el más utilizado en el aislamiento de dicho microorganismo.

Otro de los objetivos fue el estudio de la posibilidad de emplear el mejor método en el trabajo rutinario de laboratorio de diagnóstico para colaborar con el médico en el tratamiento adecuado del enfermo, evitando con esto una enfermedad no totalmente curada y con las consecuencias que ello acarrea.

Para la interpretación de los resultados obtenidos en este estudio en lo referente a la comparación, incremento de cultivos positivos y confiabilidad de las técnicas utilizadas, se --

empleo el método de la Chi cuadrada.

2.- GENERALIDADES

2.1 } ANTECEDENTES. - Billroth en 1875, describió por primera vez un microorganismo de forma esférica que crecía formando cadenas a partir de exudados purulentos de lesiones erisipelatosas y heridas infectadas (6). Después fue observado en 1876 por Sydenham en la escarlatina. La fiebre reumática y la nefritis aguda, no fueron descubiertos sino hasta 1905 y 1936 respectivamente, siendo este microorganismo su agente casual (5).

En 1880, fue descubierto por Pasteur y Doleris, y se demostró la existencia de organismos similares denominados ESTREPTOCOCOS, (del grupo estreptos=*simoso*, *torsionado*) en la sangre de una mujer con fiebre puerperal grave (2). Fehleisen en 1882 descubrió ya su papel patógeno específico en la erisipela Ogston y Passet lo encuentran en las supuraciones quirúrgicas, y Rosembach en diversos procesos supurativos, dándole el nombre de STREPTOCOCCUS PYOGENES en 1883 (51). En un principio se pensó que cada tipo de enfermedad estreptocócica era producida por una variedad específica de Estreptococo, pero actualmente se sabe que una sola especie de Estreptococo puede ser responsable de varias enfermedades (6).

Brown y Smith en 1919, observaron que algunas cepas producían hemólisis y crearon los términos alfa, beta y gamma, descritos todavía, atendiendo al modo de comportarse los Estreptococos en las placas de gelosa sangre, tanto en su superficie -

como en profundidad. La comprobación de la etiología estreptocócica de la escarlatina fue hecha por Dick y Doches y despertó gran interés, y Bloongield define claramente la etiología estreptocócica en casi todos los casos de amigdalitis. El esclarecimiento de todo el aspecto de infecciones respiratorias estreptocócicas y las complicaciones importantes, se ha logrado desde 1935 (5,36). A partir de los trabajos de Lancefield, los ESTREPTOCOCOS BETA HEMOLITICOS fueron diferenciados en grupos inmunológicos, designados actualmente por las letras A hasta O. Los antígenos de grupos específicos fueron identificados como carbohidratos y la mayor parte de las cepas causantes de las infecciones humanas pertenecen al grupo "A". A su vez, el grupo "A" contiene una variedad de tipos antigénicos como fue demostrado posteriormente por métodos de precipitación (Lancefield) y por reacciones de aglutinación (Griffith), encontrándose que los antígenos específicos de grupo son carbohidratos mientras que los antígenos tipo son proteínas (2).

2.2.) CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS.- El diámetro del estreptococo es de 0.1 a 1.0 micra, pueden ser esféricos u ovals forman frecuentemente cadenas que se dividen en un plano perpendicular al eje mayor de la cadena, sin embargo, en vivo toman a menudo la forma de diplococos; la longitud de las cadenas tienden a estar en relación inversa con la riqueza del medio del cultivo, en las lesiones activas de los tejidos es comunmente fácil de encontrar diplococos y cocos individuales, mientras

que en los exudados de lesiones, con abscesos y en medios de -- cultivo artificiales forman cadenas. Son Gram positivos, no es-
 populados e inmóviles. Se multiplican por bipartición transver-
 sal alargando así la cadena estreptocócica, las cepas virulen-
 tas tienen como característica producir en su cápsula. ácido --
 hialurónico y protelna M (6,31,52).

Forma L.- Se ha demostrado que bajo condiciones apropia -
 das las bacterias pierden su pared celular. Si la pérdida de di-
 cha pared se realiza mediante medios artificiales lo que resta
 de la bacteria se denomina protoplasto (41).

Sin embargo, si la bacteria en la naturaleza pierde espon-
 táneamente su pared celular, tenemos entonces lo que se llama -
 forma L. Dicha forma L, tiene la propiedad de poder revertir ha-
 cia la bacteria que le dió origen. Estas formas L son resisten-
 tes a la penicilina cuya acción bactericida depende de la inter-
 ferencia que realiza en la síntesis de la pared celular.

Un grupo de investigadores estudió pacientes con lesiones
 impétiginosas recurrentes, siendo capaces de cultivar formas L
 de su sangre, después de que dichas lesiones habían desapareci-
 do con penicilina. Freimer y cols., (41) en la Universidad de -
 Rockefeller, han demostrado que los Estreptococos pueden cam --
 biar también a formas L in vitro, cuando se exponen a concentra-
 ciones sub-letales de penicilina. Cuando se reduce la concentra-
 ción de penicilina, las formas L revierten de nuevo a ESTREPTO-
 COCOS BETA HEMOLITICOS. Es por consiguiente, posible que algu -
 nos fracasos en el tratamiento puedan de hecho ser debidos a la

inducción de formas L, las cuales al cesar la terapia con penicilina, revierten a Estreptococos.

La forma L del ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A" que carece de la mayoría de los componentes de la pared celular puede aislarse su forma L en cultivos con la adición en el caldo o agar de acetato de talio, o medios hipertónicos que contengan además penicilina (13). En un estudio reciente, se encontró que hay dos tipos de colonias de la forma L que son A y B (13).

2.3.) CARACTERISTICAS DE CULTIVO, CRECIMIENTO, CONSERVACION Y ESTERILIZACION.- Muchas cepas de estreptococo hemolítico producen cápsula, que en el grupo "A" está compuesta por el ácido hialurónico. Las cápsulas son demostrables en cultivos -- muy recientes, puesto que el gel capsular tiende a difundir rápidamente en el medio que lo rodea.

La mayoría de ellos son probablemente saprofitos y no patógenos, pero algunas especies son patógenas y poco tejidos del cuerpo humano son inmunes a la infección estreptocócica (2).

Los estreptococos requieren de medios enriquecidos para su crecimiento. Generalmente en los cultivos primarios no se desarrolla, precisándose para obtenerlos la adición de albúminas -- animales, infusión de carne, peptona o bien la sangre total (51)

Las colonias aparecen en estos medios después de una incubación, entre las 18 y 24 horas, son aeróbios o anaeróbios facultativos. Su pH óptimo de crecimiento oscila entre 6.4 y 7.6 y su temperatura óptima es de 37°C (52).

La energía para su crecimiento, la obtienen de la utilización de azúcares. El crecimiento y la hemólisis se incrementan

por el suministro de CO₂ al 10% (Método de la vela) (31).

En los medios sólidos forma una colonia pequeña que no suele pasar de un milímetro de diámetro. Son redondas ligeramente convexas, opacas de color grisáceo (2).

Las variantes de una misma cepa de estreptococo pueden dar lugar a colonias con diferencias morfológicas, esto es particularmente marcado entre las cepas del grupo "A"; donde hay tres tipos de variaciones de colonias: mucóide, lisa o lustrosa y mate o rugosa. Las formas mucóide y mate contienen cantidades relativamente grandes de proteina M y son virulentas, en tanto -- que las formas lisas o lustrosas contienen muy poca cantidad de sustancia o proteina M y son por lo general no virulentas (2).

En los medios de cultivo líquidos, presenta aspecto granuloso, formándose unos grumos que tienden a depositarse en el -- fondo de los tubos, quedándose el líquido más o menos límpido -- (51).

En la naturaleza, los estreptococos pueden permanecer vivos en esputo, exudados y secreciones durante algunas semanas. En medios de cultivo en función del medio en que se encuentra; pueden morir pronto, de tres a cinco días en agar y de una semana a diez días en el caldo a temperatura ambiente, la muerte -- del estreptococo en los cultivos se produce tan pronto como el medio se acidifique, en congelación puede durar varias semanas si este medio contiene sangre desfibrinada y puede durar meses o años cuando se han liofilizado.

Los estreptococos se destruyen por exposición durante veinte minutos a 55°C, en autoclave a 120°C durante diez minutos o

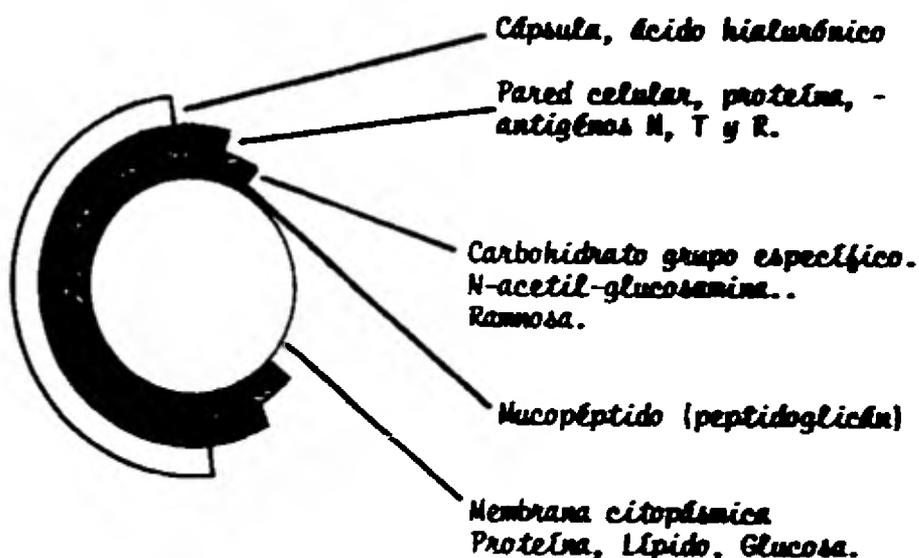
bien es muy sensible a los antisépticos corrientes como tintura de yodo, fenol al 0.5%, mercurocromo al 2% (51,52).

2.4) CLASIFICACION.- Actualmente los Estreptococos se encuentran clasificados en el Reino Procariota, División II-Bacterias, Parte 14-cocos Gram positivos, Familia II-Streptococcaceae Género I - Streptococcus (11).

En el curso de los años se han utilizado diferentes clasificaciones de los estreptococos, una de ellas es la clasificación de Brown, se basa en las características hemolíticas que produce el desarrollo sobre las placas de agar sangre, este autor los diferenció en tres grupos: alfa, beta y gamma hemolíticos. La clasificación original de Brown es aún de uso general. Parece existir una lamentable despreocupación en el empleo de términos para describir la actividad hemolítica de estos microorganismos. Existe la tendencia a emplear el término viridans como sinónimo de ESTREPTOCOCO ALFA que tiene capacidad de romper los eritrocitos con la liberación de hemoglobina provocando esto una coloración verdosa al medio de cultivo. La beta hemólisis se define como la destrucción total de los eritrocitos dando un halo transparente alrededor de las colonias del microorganismo. Por último la gamma hemólisis se define como la ausencia de esta propiedad de los eritrocitos. Sin embargo, no todos los ESTREPTOCOCOS ALFA producen la coloración verdosa y pueden producir o no hemólisis. Para evitar malentendidos, se sugiere el empleo de los términos alfa, beta y gamma para la diferenciación inicial de los Estreptococos.

Otra metodología pero quizá la más aceptable, es la del sistema Lancefield, basada en las características antigénicas de la sustancia grupo específica C. La sustancia C es un polisacárido, y ello permite la separación de los *Streptococos* en cierto número de grupos antigénicos identificados como los -- grupos A, B, C, D, E, F, G, H, I, M, N, O, P, Q y R (omitien- do las palabras (J y K)). La identificación por tipo dentro de estos grupos, de acuerdo con el sistema de Griffith, se efectúan por la reacción de precipitina con el empleo de la sustan- cia tipo específica M. En el grupo "A" la sustancia M es una - proteína (2).

2.5) ESTRUCTURA QUÍMICA.- La composición química del *Streptococo* ha ocupado la atención de varios autores y de sus - estudios se puede obtener el esquema siguiente que nos muestra la localización de algunos de los componentes importantes (6,24)



De fuera hacia adentro tenemos la cápsula compuesta de ácido hialurónico no antigénico con capacidad antifagocítica, no es inmunogénico, aunque el hialuronato de las cápsulas estreptocócicas tiende en los caldos de cultivo a difundir rápidamente en el medio, las observaciones realizadas en vivo muestran que las cápsulas pueden permanecer intactas (y mantener su acción antifagocitaria) durante largo tiempo en el huésped vivo. La labilidad de la cápsula puede estar relacionada con la elaboración de hialuronidasa por el propio metabolismo celular.

En seguida tenemos la Pared Celular, la cual contiene proteínas (antígenos M, T y R), carbohidratos (específico de grupo) y mucopéptidos.

La proteína M, identificada por Lancefield es responsable de la especificidad tipo, localizada en la superficie celular, es el factor de mayor virulencia que estimula la producción de anticuerpos, e impide la fagocitosis. Se conocen cerca de 60 tipos serológicos de Estreptococos del Grupo "A", que corresponden al mismo número de tipos químicos de proteína. Esta proteína confiere capacidad protectora y se destruye por tripsina. Dichos antígenos pueden demostrarse mediante varias pruebas: aglutinación, hemaglutinación, prueba de actividad bactericida, formación de cadenas, protección al ratón y fijación de complemento. Se ha observado que los anticuerpos ante la proteína M, dejan inmunidad larga (6, 24, 31).

Se considera a la proteína M, como un factor esencial en la virulencia de los Estreptococos hemolíticos y a su vez la base de la especificidad tipo específica. Dicha propiedad se ha tratado de aprovechar para la elaboración de vacunas específicas pero

aún existen problemas que resolver a este respecto, como es la frecuencia con que varios tipos serológicos pueden presentarse en un brote, lo que podría hacer necesario requerir vacunas polivalentes.

Las resiembras repetidas en medios artificiales pueden dar lugar a que el *Estreptococo* pierda la capacidad de producir la proteína M, capacidad que se puede restablecer por pasos consecutivos en animales.

La proteína T, no es única, sino que es una designación que agrupa a diferentes proteínas resistentes a la digestión de enzimas proteolíticas. Esta proteína no guarda relación con la virulencia; se destruye tanto por extracción ácida, como por el calor, y por lo tanto se le puede separar de la proteína M. Se obtiene por digestión proteolítica de los *Estreptococos* (con lo que se destruye rápidamente la proteína M), y permite la diferenciación de ciertos tipos.

De la Proteína R, se han descrito dos, inmunológicamente distintas: una de ellas (que recibe el nombre de 3R) es destruida por la tripsina o por la pepsina, mientras que la otra (28R) lo están sólo por la pepsina. Participan en algunas reacciones de aglutinación y aparentemente bloquean la formación de anticuerpos (6,24,31).

Por debajo de la capa proteica se encuentra el Carbohidrato C, Salton y MacCarty fueron de los primeros en estudiar el carbohidrato específico para el grupo "A" como componente de la pared celular, Lancefield utilizó el carbohidrato C, específico de grupo, para la clasificación serológica en grupos A a R.

Como se ha dicho anteriormente, la separación de los ESTREPTOCOCOS BETA HEMOLITICOS en grupos inmunológicamente específicos se basa en la presencia de carbohidratos antigénicos grupo específico en sus paredes celulares. Estos hidratos de carbono C pueden extraerse por varias técnicas.

El hidrato de carbono antigénico de la pared celular constituye aproximadamente el 10% del peso seco del microorganismo y contiene la mayoría de los grupos ramosa y hexosamina como principales constituyentes. Su especificidad antigénica depende principalmente de la naturaleza del residuo terminal de -- azúcar de sus cadenas laterales ramosa, que es un oligosacrido. En el antígeno del grupo "A" este determinante es la N-acetil glucosamina, y en el antígeno del grupo C, la N-acetil galactosamina. Se han descrito también cepas estrechamente relacionadas entre si cuyo antígeno específico de grupo carece de una hexosamina terminal; la especificidad antigénica parece residir en las cadenas laterales ramosa (24,27).

2.6) TOXINAS Y ENZIMAS. - EL ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO forma una serie de productos de los que depende la intensidad de su poder patógeno (51). La gran variedad de procesos patológicos producidos en el hombre por los ESTREPTOCOCOS BETA HEMOLITICOS del grupo "A", pueden estar en relación con el elevado número de productos extracelulares que estos organismos son capaces de producir.

El grupo "A" de Estreptococo elabora más de 20 productos extracelulares antigénicos como fueron demostrados en un estu-

dio electroforético que se realizó utilizando una mezcla de -- gammaglobulinas humanas, que reveló, que durante la infección estreptocócica se producían gran número de sustancias extracelulares que indican la formación de anticuerpos. Algunas de -- ellas refuerzan su poder patógeno.

De entre todas las identificadas, las que se citan a continuación parecen tener mayor significación patogénica (6, 24).

Exotoxinas. - Incluyen dos variedades de hemolisinas. Los Estreptococos del grupo "A" producen estas dos hemolisinas (Estreptolisinas) que se identifican por su capacidad de lisis -- los eritrocitos. Todd y Weld demostraron que la asociación del Estreptococo con las enfermedades del hombre se debían a estas dos sustancias hemolíticas. Estas sustancias son la Estreptolisina "O" y la Estreptolisina "S" (6).

La estreptolisina "O", se denomina así por la facilidad -- con que es inactivada reversiblemente por el oxígeno atmosférico. Es una toxina de estructura proteica con actividad hemolítica solamente cuando esta reducida o reactiva (grupos - SH disponibles) y que se inactiva rápidamente cuando se oxida. Es estable a altas temperaturas, cardiotoxica y es una proteína -- que es producida por la mayoría de las cepas del grupo "A". Se combina cuantitativamente con la antiestreptolisina "O", la -- cual es un anticuerpo que aparece en el hombre y los animales después de una infección por Estreptococos productores de Estreptolisina "O", y este fenómeno proporciona las bases para -- la determinación cuantitativa del anticuerpo. Como se dijo es antigénica produciendo anticuerpos que neutralizan la acción

hemolítica de la toxina; características que se han empleado - en los laboratorios de diagnóstico como veremos más adelante - de este trabajo para localizar infecciones producidas por *Es - treptococos* (9,24,31). El título de antiestreptolisina se encuentra elevado durante las infecciones agudas, así como en -- las infecciones no supurativas. Aunque recientemente se ha visto que no hay correlación de las características de crecimiento (en fase logarítmica) con la producción de antiestreptolisina "0" (17).

La Estreptolisina "0" *in vitro* se inhibe por el coleste - rol y es capaz de lizar leucocitos por acción sobre los fosfo - lípidos de la membrana causando daños irreversibles (13). Inyectada en conejos en dosis pequeñas produce cambios en el trazo electrocardiográfico en un período corto inmediato a su introducción en el animal de prueba, basándose en la aparición brusca de éstos cambios, se piensa en la liberación de alguna sustancia farmacológicamente activa más que una acción directa de la toxina (24).

Estreptolisina "S". - Es una hemólisis soluble, ya que es la que causa las zonas de hemólisis que circundan las colonias de *Estreptococo* beta hemolítico en placas de agar sangre. Es - una toxina citotóxica, no inmunogénica (17).

Es una proteína que produce hemólisis en presencia de oxí geno, no es inmunogénica, sin embargo, los sueros del hombre y los animales contienen a menudo un inhibidor inespecífico que es independiente de los contactos que se hayan tenido con *Estrep*

tococo en el pasado, su actividad se mide por la acción sobre los glóbulos rojos o por los efectos citotóxicos que provoca - en algunas células de mamíferos, tiene un espectro de acción - más amplio que la estreptolisina "O" pues produce lisis en glóbulos rojos, leucocitos polimorfonucleares y plaquetas.

Se destruye por el calor y se vuelve inactiva a muy bajas temperaturas, su actividad hemolítica se inhibe por bajas concentraciones de fosfátidos.

Se ha observado por Hirschorn y cols. (24) que *in vitro* - la toxina produce aumento de mitosis en los leucocitos periféricos de individuos normales, enfermos o convalecientes; sin embargo este efecto no se manifiesta en leucocitos de individuos con fiebre reumática. Cuando se inyecta en conejos, produce la muerte en 45-60 minutos con daño cardíaco, hemiperitoneo y hematuria. Los hematíes de ratón son altamente sensibles a - estreptolisina "S", la misma toxina tiene efecto citotóxico sobre leucocitos, células tumorales y plaquetas al parecer por - modificaciones de los fosfolípidos de las membranas (24,31).

Su peso molecular es de 20,000 lo cual le da su condición de hapteno, de aquí que no pueda inducir por sí sola la presencia de anticuerpos (52).

Toxina eritrogénica. - Se sabe que la toxina eritrogénica - es responsable del exantema en la escarlatina y es producida - por la mayoría de los Estreptococos del grupo "A", y por algunos de los grupos "C" y "G". Es antigénica y produce un anticuerpo específico (antitoxina eritrogénica), aquellas personas

que poseen la antitoxina circulante son inmunes al exantema, - aunque continua siendo susceptible a la infección estreptocóci ca. Las cepas de Estreptococo del Grupo "A" que producen eritrogénica son lisogénicas, la cantidad de toxina producida por las diferentes cepas lisogénicas es muy variable.

Es una toxina filtrable, soluble y resistente al calentamiento a 60°C por varias horas, pero se destruye a la temperatura de ebullición en una hora.

No se conoce el modo exacto de acción de la toxina eritrogénica. Cuando se inyecta en la piel de niños sensibles causa reacciones eritematosas localizadas, esto es la susceptibilidad a la toxina eritrogénica, se puede poner de manifiesto mediante la prueba de Dick, que consiste en inyectar por vía intradérmica 0.1 ml. de toxina eritrogénica (un filtrado de cultivo en medio líquido) estandarizada y diluida. El mismo material, pero inactivado por el calor se inyecta como testigo en un sitio diferente. Se observa una reacción positiva en ausencia de -- concentraciones significativas de antitoxina en la sangre, a las 18 a 24 horas de la inyección aparece una zona de eritema y edema que mide de 10 mm. de diámetro.

Se puede demostrar la naturaleza específica del eritema - de la fiebre escarlatina por medio de la prueba de Schult-Charl ton, la cual consiste en inyectar antitoxina específica en una zona de la piel en que el eritema sea bastante aparente; si dicho eritema es causado por la toxina eritrogénica de los Estreptococos, el enrojecimiento se aclara y desaparece en el área - inyectada, en la cual la antitoxina ha neutralizado a la -

toxina.

La toxina eritrogénica es citotóxica, aumenta la sensibilidad de la endotoxina y exhibe gran actividad pirogénica por liberación de pirogeno endógeno.

Hay tres clases de toxina eritrogénica inmunológicamente distintas, tipo A, B y C producidas por diferentes cepas de *Estreptococo*. Posiblemente, las tres son proteínas (6,24,31).

Estreptoquinasa. - (fibrinolisisina). - En 1933 se hizo la observación de que los *Estreptococos hemolíticos* lisis rápidamente la fibrina. La sustancia extracelular que produce este efecto fue llamada Estreptoquinasa. Esta sustancia no lisa directamente la fibrina, sino que activa una enzima sérica, el plasminógeno, que a su vez reproduce la lisis del coágulo. La estreptoquinasa es producida por cepas de los grupos "A" de Lancefield y solo ocasionalmente y en pequeñas cantidades por los grupos "B" y "F".

No se conoce el papel exacto de las Estreptoquinasa en los procesos infecciosos. Se ha pensado que la naturaleza invasora de las infecciones estreptocócicas es debido a la estreptoquinasa, que destruye la barrera de fibrina y otras proteínas. Tal digestión puede ser medida por inhibidores no específicos presentes en el suero, así como por un anticuerpo específico, la antiestreptoquinasa, formada en respuesta a un contacto previo del sujeto con la estreptoquinasa.

La estreptoquinasa se emplea terapéuticamente para destruir adherencias y barreras de fibrinas de reciente formación o en casos de formación anormal de coágulos de sangre de vasos sanguíneos o cavidades del cuerpo.

La estreptoquinasa es antigénica encontrándose en el 70-90% de los pacientes que han padecido infecciones estreptocócicas -- con elevación del anticuerpo correspondiente (12, 31, 52).

En un trabajo realizado recientemente se observó que la producción de estreptoquinasa es más alta en cepas de fiebre reumática que en la de faringitis aguda (34).

Estreptodornasa (Desoxorribonucleasa). - Es una enzima caracterizada por despolimerizar la desoxirribonucleoproteína, es producida por la mayoría de las cepas del grupo "A". Por medio de la electroforesis se pueden separar cuatro tipos diferentes (A, B, C, y D), que además de despolimerizar la desoxirribonucleoproteína también la hace con el ácido desoxirribonucleico (ADN), -- las dos sustancias a las que se debe la viscosidad de los exudados. En la actualidad hay un preparado farmacéutico comercial a base de estreptoquinasa y estreptodornasa (Varidasa) destinado a inyectarse o tomarse donde haya pus o sangre, con este tratamiento se obtiene la licuefacción de la fibrina y de tejido necrótico (31, 52).

Hialuronidasa. - Es una enzima que hidroliza el ácido hialurónico, constituyente importante de la sustancia intercelular del tejido conjuntivo. Así, pues, la hialuronidasa favorece la diseminación de los microorganismos infectables (factores de -- diseminación o factor de difusión), debido a que aumenta la permeabilidad de los tejidos. Las hialuronidasas son antigénicas y específicas para cada bacteria o tejido del cual se obtengan, -- después de una infección debida al organismo productor de hialuronidasa, se encuentran anticuerpos específicos en el suero --

del paciente.

La hialuronidasa purificada se emplea en medicina para facilitar la diseminación y la absorción de líquidos inyectados - en los tejidos. Es producida en grandes cantidades por el grupo "A" tipo 4 y 22 de los Estreptococos.

Otras sustancias elaboradas por los Estreptococos son: Leucocidina, Protelnasa y Antidinasa (31, 52).

2.7) EPIDEMIOLOGIA.- La incidencia de infecciones Estreptocócicas varía ampliamente en cada área geográfica y parece hallarse en relación con el clima. Las infecciones por Estreptococos se presentan en todas las razas, en ambos sexos y en todas las edades y ocurren en cualquier estación del año principalmente de abril a diciembre y en todo el mundo.

Es verdad, sin embargo, que la frecuencia y las manifestaciones clínicas son alteradas por algunos de los factores epidemiológicos como clima, estación y región geográfica; estos son básicamente importantes, ya que rigen el contacto estrecho entre individuos. Por ejemplo: en las poblaciones de reclutas militares que se movilizan y se reúnen en cuarteles amplios y climas fríos en condiciones de hacinamiento, es donde se producen las circunstancias ideales para el transporte rápido de gérmenes a un individuo a otro y en tales poblaciones es donde se originan las epidemias más graves registradas. La enfermedad estreptocócica es particularmente grave en los conglomerados civiles, -- cuando la pobreza y las malas condiciones de vivienda originan la vida con mucho hacinamiento.

Se ha visto que las infecciones estreptocócicas varían nota

blemente según las estaciones del año. La frecuencia máxima ocurre entre abril y diciembre y son raras las infecciones esporádicas durante los meses calientes de verano.

La enfermedad ocurre sobre todo en niños de 5 a 15 años, pero también son muy sensibles a la infección, personas más jóvenes o de mayor edad. Para entender mejor la epidemiología de la infección estreptocócica se debe considerar su modo de transmisión. Esta ocurre por contacto directo entre personas infectadas o por portadores sanos y personas susceptibles. No se conocen reservorios importantes extrahumanos o animales de este germen aunque se han observado brotes ocasionales causados por contaminación de alimentos, muchas veces la leche. En general, sin embargo los Estreptococos se difunden rápidamente fuera del huésped humano y los gérmenes que se encuentran en los vestidos ropa de casa o polvos caseros, aunque identificables como los del grupo "A" se han comprobado que no son infecciosos cuando se inculcan a las gargantas de voluntarios humanos. Los niños, en quienes la infección es frecuente y los portadores humanos, abundantes, constituyen la causa básica de la difusión de la enfermedad estreptocócica. La presencia de un niño tratado e infectado de cinco años de edad en un hogar, irá seguida de infección de más de la mitad de sus hermanos y un número importante de adultos en el medio.

La difusión de una cepa virulenta es Estreptococo del grupo "A" tipo M a través de una familia, ocurre mucho más fácilmente que con gérmenes que no son tipo M.

Por lo menos el 5 % de las personas de cualquier comuni--

dad son portadores de Estreptococo del grupo "A". Las personas -- menores de 20 años, especialmente si conservan sus amígdalas, -- tienen mayor probabilidad de alojar Estreptococo del grupo "A".

Los Estreptococos del grupo "A", rara vez existen en gran -- número en la garganta, excepto inmediatamente antes o después de -- la infección o durante ella. Una vez que el individuo ha sido in -- fectado, puede permanecer como portador, el Estreptococo va in -- crementando su capacidad de producir la proteína M.

Se ha establecido que los portadores nasales de Estreptococo del grupo "A", son especialmente aptos para transmitir la en -- fermedad.

Se acepta que los microorganismos patógenos respiratorios -- se diseminan por dos mecanismos:

- 1) Directamente, entre dos personas, por contacto físico o por gotitas "flugge" llevadas por el aire a cortas dis -- tancias.
- 2) Indirectamente, por núcleos de las gotitas, de polvo y -- los aerosoles.

Esto implica que el modo directo de la transmisión es el -- principal responsable de la propagación de dichas infecciones.

La diseminación de Estreptococos de cualquier grupo de po -- blación, debe relacionarse, también, con el grado de exposición o sea el tiempo de contacto interpersonal.

En condiciones epidémicas el 80 % de los pacientes no trata -- dos pueden llevar la cepa infectante en la garganta hasta por -- cuatro semanas. Por otra parte, las infecciones estreptocócicas esporádicas y leves en niños en edad escolar y estudiados duran

te los últimos años no se acompañan tan frecuentemente en tal etapa duradera del portador (5,6,21).

La discusión de los factores ambientales se limitarán a una breve descripción sobre la disminución del agente infeccioso. La importancia de la diseminación familiar en la epidemiología de las infecciones estreptocócicas es bien conocida.

Varios estudios han demostrado que en el lapso de una o dos semanas que transcurren desde el momento que se identifica una infección aguda, del 15 al 30% de los hermanos adquiere un tipo serológico al que se aísla en el caso primario.

Estos casos secundarios tienen que ver con el problema de las recaídas debido a que después del tratamiento, el caso inicial puede readquirir el organismo de sus hermanos.

En el caso de fiebre escarlatina y nefritis aguda, por Estreptococo se ha demostrado que por lo menos una tercera parte de los contactos familiares, albergan el Estreptococo, siendo la mayoría de tipo idéntico al que causó la infección. Se ha demostrado que la frecuencia de recaídas bacteriológicas es significativamente mayor cuando existe un gran número de contactos familiares con cultivos positivos. Por consiguiente es probable que algunos de estos fracasos que se atribuyen a las drogas utilizadas, sean en realidad pacientes que adquirieron el organismo de un contacto familiar y por el momento es imposible distinguir estos pacientes de los verdaderos fracasos terapéuticos (42).

2.8) PATOGENIA.- Los Estreptococos penetran al organismo principalmente a través de las vías respiratorias superior-

res, se alojan en las mucosas y otros tejidos y quizá se conservan viables durante períodos relativamente cortos, a menos que, en efecto, invadan los tejidos. Es muy fácil que se establezca en la nariz y en la garganta. Los microorganismos se abren paso a través de los tejidos linfáticos de la garganta, sobre todo de las amígdalas, cuyas criptas ofrecen aparentemente un sitio ideal.

Son múltiples los factores que determinan que aparezca la infección, a consecuencia de la exposición a los microbios; -

1) La cantidad o número de Estreptococos parece ser un factor decisivo, así como la duración e intimidad de la exposición al microorganismo.

2) El segundo factor es en relación a la virulencia del Estreptococo.

3) Quizá tan importante como el microorganismo mismo es la susceptibilidad del huésped. El que los Estreptococos del Grupo "A" logran invadir los tejidos, depende también del estado de inmunidad del individuo.

Los microorganismos pueden causar una bacteremia, invadiendo los vasos sanguíneos si los mecanismos de defensa local no funcionan adecuadamente o provocar, ya sea infecciones como la meningitis, el absceso cerebral, y la endocarditis o bien las infecciones generalizadas que, al no ser tratadas, casi invariablemente llevan a la muerte.

La mayoría de las infecciones estreptocócicas son de corta duración y su fase termina en 5 a 7 días. No se ha defini-

do el mecanismo exacto de la recuperación en este plazo, pero, se supone que se desarrollan anticuerpos que ayudan a la destrucción de los microorganismos; ese poder bactericida de la sangre es específico de tipo, el paciente está protegido contra infectante del grupo "A" y no contra otros de este grupo de microorganismos. Esta inmunidad antibacteriana persiste -- por varios años (5,21).

2.9) DIAGNOSTICO.- El diagnóstico de las enfermedades respiratorias agudas, tienen más o menos siempre una experiencia clínica frustante, esta discusión realiza el papel de cultivo de garganta para aislamiento e identificación del ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO, en ayuda en la clínica y así diferenciar de una infección viral o bacterial (31).

Desafortunadamente en la clínica del Estreptococo, la faringitis es usualmente difícil de acertar, los síndromes clásicos describen más típicamente las infecciones por Estreptococos del Grupo "A" en los siguientes puntos: Síntomas: se observan úlceras repentinas sobre la garganta, alguna vez asociado con dolor abdominal y náuseas, especialmente en niños, y acompañado a los síntomas existe malestar, dolor de cabeza y estado febril. Signos: enrojecimiento y edema de la garganta y particularmente la presencia de un exudado en las amígdalas y fosas amígdalinas, agrandamiento y dolor de los ganglios -- linfáticos, fiebre de 38.5°C o mayor. Los datos del laboratorio, como el cultivo de la garganta, y aumento de leucocitos de 12,000 mm³ o mayor son útiles (47).

La responsabilidad del médico es grande más aún cuando sabemos que no siempre la infección estreptocócica se manifiesta en toda su intensidad y por lo tanto no es siempre reconocible clínicamente.

Desgraciadamente no todas las infecciones estreptocócicas presentan características clínicas. Algunos pacientes pueden no presentar sintomatología y en otros, algunos de los síntomas típicos pueden estar ausentes o disminuidos.

Sólo un 40% de 264 pacientes con fiebre reumática tuvieron una sintomatología franca que los hizo acudir al médico pero fueron a menudo tratados de manera adecuada. Por lo tanto, el médico que se enfrenta a un paciente con sintomatología de vías respiratorias altas, deberá dirigir todo su esfuerzo y conocimiento para descartar una infección estreptocócica -- que de otro modo pasaría desapercibida.

El niño preescolar a menudo no se queja de disfagia.

El valor de la petequias cuando están presentes en el paladar blando como signo diagnóstico de la infección estreptocócica ha sido estudiado y, se encontró que el 74% de los pacientes presentaron petequias en el paladar teniendo una infección faringoamigdalina por ESTREPTOCOCCO BETA HEMOLITICO -- del grupo "A".

Es importante en este momento señalar, que muchas veces el diagnóstico de faringitis se lleva a cabo ocasionalmente -- cuando el paciente se queja de "dolor faríngeo", sin que haya signos definidos de enrojecimiento, exudado o ulceración de --

la faringe. La frecuencia del Estreptococo del grupo "A" como causa de faringitis parece estar correlacionada con la edad del paciente. Una faringitis moderada o severa es más probable que sea estreptocócica en un niño de edad escolar entre los 5 y 17 años (41).

Por lo tanto, actualmente se cree que debería determinarse se la ficha informática con la identificación del paciente. Los datos clínicos y los diversos exámenes de laboratorio. Los nueve criterios a tomar en cuenta serían los siguientes:

La fecha en que se envió al enfermo, edad del paciente, número total de leucocitos, temperatura, malestares de garganta, tos, cefaleas, aspecto de la faringe, adenopatías cervicales. Se puede así predecir de manera razonable la probabilidad de infección por Estreptococo, la exactitud de la precisión por este método es al menos buena, como la realizada por un médico experimentado.

Se entiende que el método se manifiesta bastante exacto y simple, y lo recomiendan en los casos donde tiene utilidad conocer si una infección es estreptocócica, antes de haber recibido los resultados del cultivo del laboratorio (10).

2.10) ENFERMEDADES.- A la infección por Estreptococos están asociados una diversidad de procesos patológicos. Influyen grandemente en la índole de la enfermedad, las propiedades biológicas del organismo infectante, la naturaleza de la respuesta del huésped así como la puerta de entrada de la in-

fección (31). Los *Estreptococos*, como grupo, constituyen probablemente los microorganismos patógenos más importantes para el hombre por sus secuelas.

Estas bacterias pueden invadir cualquier tejido u órgano a partir de el sitio inicial de la infección, existiendo también portadores sanos. Las infecciones provocadas por los *Estreptococos*, son numerosos y variados (21). Las localizaciones más frecuentes en el hombre son: la nasofaringe y la piel.

Los padecimientos agudos como: la faringitis, la escarlatina, la erisipela, la fiebre puerperal, impétigo, neumonía, abscesos originados por heridas infectadas, linfagitis, sinusitis paranasal, otitis media, mastoiditis, celulitis, meningitis y adenitis cervical supurada, quedan incluidas en el grupo de infecciones estreptocócicas supurativas; la infección supurativa está condicionada por la capacidad invasora del microorganismo y a la resistencia a la fagocitosis de las cepas virulentas producidas por la presencia de la proteína M o el ácido hialurónico capsular.

Las lesiones pueden ser difusas como en la celulitis, ya que esta enfermedad se inicia en diversas puertas de entrada, desde donde se disemina por vías linfáticas y sanguíneas, pudiendo provocar bacteremias graves.

Son frecuentes las infecciones estreptocócicas del tracto respiratorio superior, en donde produce faringitis, nasofaringitis, sinusitis, amigdalitis, cuyo cuadro clínico varía en intensidad, llegando a un 20% a ser prácticamente asintomático.

Las infecciones estreptocócicas no supurativas se denominan así, por ser enfermedades que se presentan como secuelas tardías de una infección estreptocócica. Las dos entidades clínicas son Glomerulonefritis aguda y fiebre reumática (24).

Entre las infecciones estreptocócicas supurativas se encuentran;

Escarlatina.- El germen queda localizado en la faringe, produciendo la clásica angina escarlatinosa y la difusión de la toxina da lugar no solamente al síntoma general, fiebre, sino a las características de la enfermedad, la erupción. La escarlatina es una enfermedad endémica, principalmente de la infancia, que también se puede presentar de modo epidémico. Hay epidemias graves y otras leves. Se puede determinar las toxinas eritrogénicas con la técnica de Dick y la de Schultz Charlton (21).

Erisipela.- Esta forma de infección cutánea por Estreptococo del grupo "A", presenta características especiales, su puerta de entrada es la piel o las mucosas superficiales. La erisipela suele afectar cara y cabeza pero puede presentarse en cualquier otra parte del cuerpo y se presenta en individuos de edad avanzada, especialmente en aquellos que sufren enfermedades crónicas incapacitantes (5,31).

Fiebre Puerperal.- Si el Estreptococo penetra en el útero después del parto, se desarrolla fiebre puerperal, que es fundamentalmente una septicemia originada a partir de la herida infectada (endometritis) y también en casos de aborto séptico.

Se ha observado que en Ginecología se presentan casos de contaminación adquirida en el hospital, aislándose al germen del -- cuello uterino. Otros casos de infecciones adquiridas en el -- hospital son: la salpingoclasia o por la colocación del aparato intrauterino. En todos estos casos se aisló e identificó al ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO grupo "A" de las infecciones causadas (31,35).

Impétigo.- Es la más común de las piódermas, ocurre frecuentemente al final del verano y comienzo del otoño, en niños de edad preescolar y lactantes. La transmisión del padecimiento puede facilitarse mecánicamente por insectos, en particular pulgas que son atraídas por las lesiones cutáneas, los pacientes con impétigo muchas veces albergan en la garganta los mismos gérmenes que colonizan la piel (5,21).

Neumonía.- Puede ser secundaria a infecciones de las vías respiratorias superiores, causadas por virus (gripe, sarampión) o bien en personas con enfermedad pulmonar subyacente (22).

Linfagitis, Sinusitis, Paranasal, Otitis media, Mastoiditis, Celulitis, Meningitis, Bacteremia, y Adentis Cervical supurativa.- La diseminación directa de los Estreptococos hemolíticos desde la zona faringea a los tejidos vecinos puede originar estas complicaciones y son más frecuentemente observadas.

Se ha demostrado que la otitis media que ocurre en fase temprana de una infección respiratoria estreptocócica, está -- causada por el mismo tipo serológico que existía en la garganta al iniciarse el proceso, también se ha demostrado que en niños neonatales al nacer y al pasar por el canal uterino adque

ren al ESTREPTOCOCCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A" y les da además de otitis media como consecuencia la mastoiditis, meningitis y bacteremia, al tener la madre este microorganismo en la vagina o en el tracto urinario.

La adenitis cervical dolorosa, existe siempre y no debe considerarse como complicación, a menos que los ganglios linguales aumenten mucho de volumen y fluctúen (5,20,21).

La pericarditis.- Es una complicación rara, se presenta con mayor probabilidad durante la evolución de la nemonia, la reacción más común es la acumulación de líquido en la cavidad, el cual comprime las partes más depresibles del corazón, y dificulta las revoluciones cardíacas.

La Artritis.- Es secundaria a la bacteremia o extensión de la celulitis localizada, es complicación rara de la faringitis estreptocócica y se ven afectadas las articulaciones y hay dolor y deformación de estas.

La peritonitis.- De origen estreptocócico es rara, entre sus síntomas tenemos: fiebre, postración, dolor abdominal y vómitos (5,21,).

Entre otras enfermedades están, la septicemia con complicaciones secundarias produciendo abscesos en la apéndice, infección en el líquido gástrico, así en esclerosis múltiple y en postquirurgia (9).

Endocarditis Bacteriana.- Los ESTREPTOCOCCOS BETA HEMOLITICOS, durante una bacteremia se depositan sobre las válvulas cardíacas normales o con deformaciones previas y producen una

endocarditis bacteriana ulcerativa aguda; la destrucción rápida de las válvulas tiene a menudo un desenlace fatal en días o semanas. La endocarditis bacteriana subaguda, por otra parte afecta solamente a válvulas anormales por deformaciones -- congénitas o por lesiones reumáticas.

Pielonefritis.- Es una infección en el riñón originado -- generalmente por *Estreptococo* del Grupo "A", cuando los microorganismos existen en gran número, hay disuria, polaquiuria, dolor en el flanco, fiebre y piuria.

Glomerulonefritis.- Consecutivamente a una infección aguda por *Estreptococo* del Grupo "A" (especialmente una faringitis estreptocócica), puede tener un período de latencia de 2 a 3 semanas, después del cual se desarrolla ocasionalmente nefritis o fiebre reumática. El intervalo comprendido entre el período de latencia sugiere que tales enfermedades no son atribuibles al efecto de las bacterias que se han diseminado, sino que, más bien representan una respuesta hipersensible -- consecuente al daño provocado por el *Estreptococo* en los órganos afectados (31).

Fiebre Reumática.- Puede ser consecuencia de una infección de vías respiratorias altas causada por *ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO* del Grupo "A" (principalmente faringitis se han visto casos de que es precedida por bronquitis en casos muy raros así como de otitis). Es una enfermedad aguda recurrente y crónica del tejido conjuntivo, caracterizada por la presencia de inflamaciones focales múltiples en diversas partes del cuerpo

especialmente corazón, vasos sanguíneos y articulaciones, sin supuración; dicha enfermedad también puede afectar otros órganos como los pulmones, ojos, riñones, cerebro, piel con erupciones eritematosas, púrpura o nódulos periarticulares, pero estas alteraciones son pasajeras y pueden sanar por completo.

La forma aguda ataca principalmente a los niños, aunque las personas mayores no están exentas de padecerla. La forma crónica se caracteriza por afectar el corazón de manera irreversible, dando lugar a diferentes grados de limitación en la capacidad física de los enfermos y termina en insuficiencia cardíaca con mucho más frecuencia.

El clásico ataque de fiebre reumática, se presenta como poliartritis aguda migratoria, y se acompaña de signos y síntomas de proceso febril; las articulaciones grandes de los miembros son afectadas con más frecuencia, el carácter migratorio es característico y la respuesta clínica es según los signos articulares presentes. Es una articulación afectada, la piel que la cubre es roja, caliente, hay derrames sinovial que modifica el aspecto normal y los movimientos activos y pasivos produce dolor intenso (3).

Infección Generalizada.- La contaminación de las heridas traumáticas y quirúrgicas viene por contaminación.

Por último he dejado faringoamigdalitis debido a que esta es la enfermedad para la cual hice la toma de productos de este trabajo.

Faringitis Estreptocócica. - En los lactantes y preescolares de corta edad, la infección no tiene un comienzo agudo -- bien definido y se presenta en forma de una nasofaringitis sub aguda, con exudación serosa muy fluida y poca fiebre; pero con una marcada tendencia a que la infección se extienda hacia el oído medio, mastoides y las meninges. Los gánglios linfáticos cervicales generalmente están tumefactos y sensibles a la palpación; la manifestación dominante suele ser la rinorrea y los signos físicos en la garganta no tienen nada de característico, por lo que no permiten hacer un diagnóstico clínico preciso. La enfermedad puede durar semanas.

En niños y adultos se presenta como una enfermedad más -- aguda, se ve a medida que los pacientes son de mayor edad, hay una tendencia aumentada en el sentido de que las reacciones inflamatorias se hacen más localizadas y más intensas, la inflamación e irritación de la garganta es más severa y forma abscesos periamigdalinos, alternando el piso de la boca y bloqueando las vías respiratorias.

La faringitis estreptocócica, se caracteriza por los siguientes síntomas: comienzo brusco con faringitis, a veces acompañada de dolor abdominal y náuseas, especialmente en niños y los síntomas generales de malestar, cefalea y fiebre relativamente alta de 38.5°C o mayor.

Los signos son los siguientes: enrojecimiento y edema de la garganta en particular, presencia de un exudado en amígdalas y fosas amigdalinas, aumento de volumen e hipersensibilidad

de los ganglios cervicales anteriores.

El cuadro clínico completo se desarrolla en una minoría de pacientes, con faringitis aproximadamente de 20%, excepto en casos de epidemia. En clínica, es mucho más frecuente el paciente con algunos de los siguientes signos y síntomas antes señalados, pero no todos; se ha observado que el 75% de los pacientes están afebriles en plazo de 72 horas después del comienzo de la infección, las molestias faringéas y la adenitis por hipersensibilidad, suelen durar dos o tres días después que la temperatura ya se ha normalizado. Hay que tener en cuenta que no es raro que la estreptococcia ligera se acompaña de faringitis no exudativa, -- (los estreptococos hemolíticos constituyen la única causa bacteriana importante en la faringitis no exudativa).

Los Estreptococos del grupo "A", tienden a persistir largo tiempo después de haberlos superado el paciente, si no se ha empleado tratamiento antimicrobiano. En general, cuando más virulenta es la cepa, más prolongada es la convalecencia y la duración de la etapa de portador faríngeo.

Complicaciones de la faringitis: procesos supurativos pueden seguir a una faringoamigdalitis estreptocócica no tratada.

2.11 | TRATAMIENTO.- Los antibióticos han cambiado radicalmente el pronóstico para todos los tipos de infección estreptocócica, un tratamiento temprano y adecuado con el antibiótico de elección, conduce a la recuperación de prácticamente la totalidad de los pacientes (31).

La droga de elección es la penicilina. Es importante seña -

lar que cuando se utiliza penicilina oral o intramuscular de corta duración (Procalna) el tratamiento debe someterse por un periodo de 10 días, pues de lo contrario no se elimina el Estreptococo

La penicilina Benzatina ha probado su validez para erradicar el Estreptococo pues existen numerosas cepas resistentes a la tetraciclina y las sulfonamidas no lo erradican.

Las dosis de penicilina recomendadas son:

1) Penicilina Procalna 800,000 unidades diarias durante 10 días. La desventaja de este tratamiento estriba en su costo y en que el paciente puede suspender el tratamiento al sentirse bien - el 30. ó 40. día. Los estudios han demostrado que sólo 4 de cada 10 pacientes a los que se les prescribe este antibiótico terminan el curso completo de 10 días (41).

2) Penicilina oral 800,000 unidades diarias durante 10 días. La dosis puede repartirse en 4 tomas de 200,000 unidades de cada una ó bien sólo en dos tomas de 400,000 unidades cada una; por ejemplo, a las 8:00 a.m. y 8:00 p.m. Este último tratamiento en cuanto a distribución de tomas ha sido encontrado tan efectivo como el de repartirlo en 4 tomas. La desventaja es el costo del tratamiento y falla del paciente al terminarse el curso prescrito de 10 días.

3) Penicilina Benzatina de 600,000 unidades en niños menores de 6 años y 1.2 millones de unidades en niños mayores de 6 años - y adultos. La penicilina así administrada como dosis única es capaz de erradicar el Estreptococo dando un por ciento de recaídas del 5 al 75%, el cual es menor que el de la penicilina oral. Como

se mencionó antes esta droga ha probado su validez para tratar una faringoamígdalitis estreptocócica. La desventaja es que la fiebre tarde más en abatirse y esto debe tenerlo en cuenta el médico para tranquilidad de los familiares y de él mismo.

Con el fin de obviar esta dificultad (persistencia de fiebre más allá de 36 horas) es recomendado el uso de 800,000 unidades de penicilina Procaína durante 3 días seguidos, el cuarto día una inyección de 600,000 unidades de Benzatina, si el paciente es menor de 6 años ó 1.2 millones de unidades si es mayor de esa edad.

Por último es conveniente recalcar que independientemente del esquema de tratamiento utilizado, el Estreptococo es más difícil de erradicar en los casos de fiebre escarlatina (30 a 50% de fracasos) por lo que en estos casos recomendamos que al primer tratamiento cualquiera que éste sea se le agregue otra inyección de penicilina Benzatina de 1.2 millones de unidades, al final del tratamiento ó sea el 11avo. día (41).

En un estudio se obtuvo que es mejor el tratamiento con tabletas de 200,000 unidades de penicilina diarias, ajustando la dosis conveniente a cada caso, porque con el tratamiento de las tabletas no hay reacciones de peligro para el paciente además se ve si la persona es alérgica con la administración de tabletas, si esto sucede inmediatamente se suspende el tratamiento (27).

Si el paciente es alérgico a la penicilina, la eritromicina a dosis de 30 a 50 mg. por Kg. de peso por 24 horas y por 10 días es la droga de elección. Debe recordarse que aunque se han descrito cepas de Estreptococos resistentes a la eritromicina este por -

centaje es mínimo y la droga sigue teniendo amplia utilidad en el caso de alergia a la penicilina. Con la técnica de antibiograma con discos impregnados con una concentración de 2 mg. de lincomicina y eritromicina, se observó que en 1971 a 1972 hubo un alto índice de resistencia de este microorganismo.

Como se ha visto la aparición de resistencia por parte del ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO del grupo "A" a ciertos antibióticos, obliga a buscar otros antibióticos eficaces teniéndose como recurso a Triacetiloleandomicina (TAO), Cefatrizina (un nuevo antibiótico semisintético derivado de la cefalosporina, de amplio espectro y efectivo contra piógenos, especialmente cocos Gram positivos) y Cefalexina aunque esto provoca efectos colaterales o reacciones secundarias que traen como consecuencia; hepatitis colestásica con eritromicina, sensibilidad cruzada con las cefalosporinas y penicilina, colitis pseudomembranosa con lincomicina, en TAO ictericia clínica y hepatitis subclínica, pero tales trastornos se presentaron cuando el antibiótico se administró por tiempo mayor de 10 días y a dosis elevadas (26,40).

2.12) PREVENCIÓN.- Debido a las grandes dificultades que plantea el control de la contaminación del ambiente, se insiste cada vez más en :

1) Erradicación de ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO en los portadores que deberán recibir tratamiento; aquellos niños que no teniendo síntomas inicialmente y siendo aparentemente portadores del Estreptococo los desarrollan posteriormente.

2) Aquellos pacientes que aunque no tengan síntomas portan un Estreptococo en el momento que existe en el hogar un caso de glomerulonefritis aguda o fiebre reumática, pues en estos casos es posible que si la cepa de Estreptococo es nefritogénica el posible portador termine con la enfermedad, o bien que por tratarse de una familia con predisposición genética hacia la fiebre reumática se presente un nuevo caso en el portador aparente.

3) Los niños en los que se aísla el Estreptococo en el momento en que existe en una comunidad dada una epidemia de glomerulonefritis aguda o un gran número de casos de fiebre reumática, aunque el niño al que se le aisló dicho microorganismo no presenta ninguna sintomatología se le considera como portador.

4) Es muy difícil conocer en un momento dado si un individuo sin sintomatología siempre ha portado el Estreptococo y tiene inmunidad hacia el tipo que porta o si al vivir con una familia dada, lo adquiere recientemente (contacto familiar o escolar) es potencialmente susceptible de infectarse posteriormente. Por lo tanto es de recomendar que se erradique el Estreptococo en todo contacto familiar con cultivo positivo.

5) Independientemente de lo mencionado anteriormente esta regla tiene aplicación cuando el individuo que porta el Estreptococo vive en un hogar, en el que habita también un paciente convaleciente de fiebre reumática, pues aunque el individuo que porta el Estreptococo puede tener inmunidad hacia este organismo el paciente con fiebre reumática pudiera ser susceptible hacia ese

Estreptococo, y el peligro de recalda es evidente.

Por lo tanto antes de que un paciente con fiebre reumática sea enviado a su hogar, deberán de examinarse los otros miembros de la familia incluyendo a los padres, con el fin de determinar si cualquiera de esos individuos porta el Estreptococo y de ese modo erradicarlo y proteger así al paciente con fiebre reumática de una nueva recalda. Tampoco es raro que después de un caso de nefritis aguda se presenten otros casos en la misma familia.

Debe eliminarse éstos portadores de los sitios en los que puedan causar daño de consideración, como por ejemplo, salas de trabajo de parto de las maternidades, servicios de cirugía, guarderías, etc.

Otro medio de prevención es la quimioterapia segura y temprana e intensa contra las infecciones estreptocócicas y son los tratamientos de erradicación y profilaxis de las recaídas (erradicación en 10 días de tratamiento, profilácticos en 15 días o cada mes durante años) en casos de fiebre reumática.

Otro factor es reforzar las actividades de educación higiénica, se ha comprobado que con una higiene oral, buena y gingival y con el tratamiento antimicrobiano adecuado, baja más rápidamente la erradicación del microorganismo (1,31,41,43,45).

2.13) INMUNIDAD.- Cuando el paciente tiene una infección estreptocócica desarrolla anticuerpos, contra un gran número de antígenos. Algunos de éstos anticuerpos son componentes estructurales del Estreptococo, como el anticuerpo anti-M, que puede ser

detectado en el suero a las pocas semanas y varios meses e inclusive durante años, mientras que otros son excretados extracelularmente por la bacteria, los anticuerpos estimulados por los antígenos extracelulares, tales como la antiestreptolisina "O", se forman rápidamente pero no protegen contra las infecciones repetidas.

La inmunidad hacia las infecciones estreptocócicas depende solamente de la presencia de anticuerpos que existe para cada tipo serológico de Estreptococo, de 55 tipos o más y es muy difícil que un individuo este totalmente inmunizado por todos los Estreptococos del grupo "A", por lo tanto, la inmunidad producida por anticuerpos contra un tipo, no protegen contra la infección producida por los otros tipos. En contraste con la antiestreptolisina "O", esta inmunidad tipo específica se desarrolla lentamente.

Sólo unos cuantos tipos de Estreptococos del grupo "A" -- son nefritógenos; de aquí que la presencia de anticuerpos anti M de uno de estos tipos pueda explicar la observación de que un ataque inicial de glomerulonefritis aguda disminuye sensiblemente la probabilidad de un segundo ataque. Este efecto protector no existe en el caso de la fiebre reumática debido a la gran variedad de tipos Estreptococos que pueden causar esta enfermedad.

La inmunidad frente a la escarlatina está asociada a la presencia de antitoxina eritrogénica en el suero. Como hay por lo menos tres tipos inmunológicamente distintos de toxina eri-

trogénica, la enfermedad puede recurrir (6.42).

2.14 | MÉTODOS MODERNOS.- Hay en la actualidad varios métodos y técnicas modernas para la identificación del ESTREPTOCOCCO BETA HEMOLITICO, sin importar su efectividad y costo son los -- siguientes:

Contrainmunoelectroforesis.- Se ha empleado mucho en la investigación y cuantificación de diversos antígenos y anticuerpos. La técnica de contraimunoelectroforesis también llamada immunoelectroforesis cruzada, está basada en el desplazamiento que sufre el antígeno en un campo eléctrico a través de un medio apropiado de difusión, contra una corriente de anticuerpos que se desplazan en dirección opuesta como resultado del flujo endosmótico; esto es igual en técnicas de immunodifusión, e immunoelectroforesis.

Este procedimiento es dotado de mayor sensibilidad y especificidad, en poco tiempo, lo que le da valor en los laboratorios que manejan un número elevado de estudios, pero tiene algunas desventajas de orden técnico, como el requerir de un equipo especial, se toma tiempo en la preparación de las placas de agarosa.

Otros métodos están basados en la actividad antigénica del polisacrido C que permitió a Lancefield clasificarlo en grupos serológicos de la A a la R (Omitiendo la I y la J). Utiliza tubos capilares en cuyo interior se mezcla el extracto ácido del polisacrido y antisueros comerciales, investigando la formación

de un precipitado, que es el principio en que se basa la reacción antisuero y el grupo carbohidrato que es el antígeno. Es barato y económico de comprar por los laboratorios comerciales, pero es frecuente observar precipitaciones simultáneas de grado variable en varios tubos, lo que hace difícil su interpretación y clasificación correcta.

Otro procedimiento es el de Maxted, quien observó que el 95% de *Streptococos* beta Hemolítico del grupo "A", sembrados en placas de agar sangre, son inhibidos en su crecimiento por una o más unidades de bacitracina, mientras que *Streptococos* de otros grupos serológicos no lo son. Este procedimiento es de ejecución sencilla, y se observa la inhibición de su crecimiento y sólo permite identificar al ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO del grupo "A".

Los métodos de Imunofluorescencia también han sido aplicados con el mismo propósito, empleando anticuerpos marcados con fluorocromo. La reacción se observa en un microscopio de fluorescencia y su especificidad se considera adecuada, pero su costo es elevado debido al equipo especial, lo que le hace inaccesible en algunos laboratorios.

En recientes años se ha utilizado la prueba de aglutinación en látex, que son partículas suspendidas, ya sean bacterias, -- eritrocitos y partículas que funcionan como el antígeno, que están suspendidas en una solución salina y se mezcla con antisueños específicos provocándose una agrupación de dichas partículas antigénicas. Por lo general, la aglutinación puede apreciar

se a simple vista pero, en algunos casos, requiere el exámen -
microscópico de la preparación estudiada, este es un método -
caro, porque es un producto comercial y requiere de ciertas --
temperaturas de los reactivos, es una prueba de antígeno-anti-
cuerpo.

Christensen y Col., Edwards y Larson, Carlson y McCarthy
han seguido sus estudios en el anticuerpo absorbido en la pro-
teína A contenida en el Estreptococo, el anticuerpo se combina
con la vía de la estructura, la Fc de la gammaglobulinas y da
el complemento para la orientación de Fab, que es la localiza-
ción del antígeno en la gammaglobulina. Todos éstos métodos --
son fáciles de ejecutar, así como son costosos, debido a su --
preparación y extracción. Los productos comerciales son vendi-
dos con los nombres de Streptosec y Phadebact.

Otra prueba inmunológica está basada en la reacción de he-
maglutinación, que representa una prueba simple, rápida y con-
fiable pero es costosa por el equipo que necesita para la lec-
tura de la determinación de cinco principales anticuerpos anti-
estreptocócicos. La hemaglutinación se basa en un polisacrido
recubierto de ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO, que es absorbido -
en glóbulos rojos y se puede lograr la aglutinación específica
con un suero que contenga demasiados o pocos anticuerpos para
aglutinar los microorganismos originales. Los cinco anticuer-
pos son : antiestreptolisina "O", antiestreptoquinasa, anties-
treptohialuronidasa, antiestreptodesoxirribonucleasa B y anti-
estreptonicotinamida-adenina-dinucleotidasas.

Conviene señalar lo temprano de la respuesta al estigo polivalente y su utilidad para el descubrimiento serológico de las infecciones estreptocócicas. El equipo se llama Streptozyme

Otro procedimiento es El-Kholy o técnica El-Kholy, es un método de antígeno extraído por medio del HNO_3 , éste es simple económico, sensible y específico, y es recomendado en la rutina clínica de laboratorio, el inconveniente es que es un poco demorada la extracción.

Todos los métodos o técnicas anteriores, son utilizadas en la identificación; los siguientes medios son para el cultivo del ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A".

Los resultados del cultivo de la secreción faríngea en -- placas son indispensables para establecer con certeza el diagnóstico de faringitis por ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO, para -- confirmarlo o excluirlo; un medio de cultivo reciente, está -- compuesto de gelosa sangre de carnero con triptosa y los antibióticos, ácido nalidíxico y sulfato de neomicina, se encontró que este nuevo medio, tiene la misma efectividad al tradicional de gelosa sangre de carnero.

Otro medio de cultivo para utilizarse en climas tropicales, es el de la gelosa sangre con la introducción de papel -- filtro, esto proporciona 95% de humedad y permite sobrevivir -- al Estreptococo beta hemolítico por 10 días. En este método -- también se usa el cristal violeta y se observó que baja el -- porcentaje y minimiza la contaminación de la flora normal. El inconveniente de esta metodología es la fácil contaminación de

las cajas de cultivo por el medio ambiente. La temperatura óptima de crecimiento utilizada en este método es de 35 a 38°C.

Un nuevo medio de aislamiento es de agar gelosa sangre de carnero con cristal violeta : CO_2 (Gaspak), este medio es inhibidor de Estafilococo aureus y Escherichia coli y al ser comparado con el equipo Clinicult, se observó que el primero es muy efectivo en comparación con el Clinicult que tiene como inconveniente el de ser muy costoso (19,23,25,32,33,39,43,44,46 y -50).

3.- METODOLOGIA.

Exudado Faringeo.- La infección primaria de las vías respiratorias superiores, es indudablemente la infección estreptocócica más común en el hombre o sea la faringoamigdalitis, este padecimiento ocurre especialmente entre 1 a 25 años, pero suele presentarse en cualquier edad. Las epidemias por lo general, se deben a uno o varios tipos de Estreptococo del Grupo "A", en condiciones epidémicas el 80% de los pacientes no tratados pueden llevar la cepa infectante en la garganta hasta por 4 semanas (41).

Los cultivos son importantes en el diagnóstico de ciertas enfermedades tales como la inflamación de la garganta. En la actualidad tiene gran importancia el cultivo faringeo, debido a que se ha comprobado que al eliminar los gérmenes se puede llegar a impedir que se desarrollen y no causen las enfermedades estreptocócicas.

Por desgracia las manifestaciones clínicas de faringitis estreptocócica causada por ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO del grupo "A" de Lancefield son inespecíficas, en consecuencia, para el diagnóstico exacto, es indispensable demostrar al microorganismo valiéndose del cultivo, del material de la garganta. El diagnóstico preciso conviene para limitar el tratamiento (y evitar los posibles efectos secundarios), a los pacientes que pueden beneficiarse con el mismo.

Es evidente, por lo tanto, que sin confirmación bacteriológica, es el diagnóstico clínico de la faringitis estreptocócica resulta muy difícil. Además, los signos clínicos de faringitis estreptocócica pueden modificarse en el curso de la enfermedad, de modo que por ejemplo, un niño no puede tener exudado en un día y presentarlo al día siguiente.

Por último, el porcentaje de casos de faringitis producidos por *Streptococos* varía en distintas fechas y en diferentes sitios (41).

En estudios epidemiológicos especiales es necesario estudiar los organismos de las fosas nasales, más cuando se sospecha de *Streptococo* del Grupo "A" y el cultivo nasal contribuye en algo al diagnóstico (47).

Toma de muestras.- Se le pide al paciente, que abra la boca, se presiona la lengua con un abatelenguas estéril de madera, se ilumina lo mejor posible su garganta, se frota firmemente el hisopo estéril sobre las paredes de la faringe y ambas amígdalas (o fosa amígdalina en los amigdalectomizados) y en cualquier área de inflamación, ulceración o exudación, se debe evitar tocar la lengua o los labios para no diluir o contaminar la muestra (28).

Conservación.- La muestra debe sembrarse inmediatamente. Cuando es necesario aplazar la siembra más de una hora, se debe poner el hisopo estéril con la muestra en caldo de tripti-casa soya o de cerebro y corazón y conservar en el refrigerador (28).

Transporte del hisopo.- El material en el hisopo debe sembrarse en placas de Gelosa sangre de carnero, inmediatamente después de obtener la muestra, ahora que si las muestras se tienen que enviar a un laboratorio directamente o por correo, puede colocarse la muestra en un tubo que contenga 2 ml. de caldo tripticasa soya o cerebro y corazón (BHI) o Todd Hewitt o bien seco el hisopo estéril con la muestra dentro de una envoltura de papel aluminio que posea un agente desecante (Indicador de gel de silicio) incluso en un sencillo envoltorio para píldoras, este último método puede ser menos fidedigno en clima húmedo y caliente. Los Estreptococos sobreviven adecuadamente días, incluso semanas, en los hisopos desecados; en realidad, ocurre algo de enriquecimiento porque otros microorganismos no sobreviven (28).

Cultivo de siembra directa.- Inmediatamente, después de que la muestra fue tomada, el hisopo estéril se hace rodar y se frota en el borde de una placa de gelosa sangre de carnero; con el asade alambre, se extiende la muestra sobre la demás superficie, sin volver a tocar en el sitio donde se inoculó el hisopo, el asa extiende el inóculo que con ella hizo, en el resto de la superficie de la placa, al final el asa se hunde varias veces en el medio para investigar hemólisis bajo la superficie, se incuban las cajas a una temperatura de 37°C durante 24 horas. Para obtener los mejores resultados posibles se recomienda incubar en un medio con tensión reducida de oxígeno, de preferencia en una mezcla de 10% de bixido de carbono y 90%

de nitrógeno o sea CO_2 al 10% (método de la vela). Los hisopos cuya siembra se demora, deben colocarse en caldo de tripticasa soya o cerebro y corazón y si el retraso ha sido de dos a ocho horas, se deben incubar a la temperatura de 37°C una hora antes de sembrarse, cuando la demora ha sido de más de ocho horas deben incubarse cinco horas en caldo tripticasa soya o cerebro y corazón a temperatura de 37°C (28).

Lectura de los cultivos. - ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO.

Las colonias en la superficie de la gelosa sangre de carnero son pequeñas, de menos de 1 mm. de diámetro, convexas, translúcidas, grisáceas, opacas, duras y secas, rodeadas por una zona de hemólisis de 2 mm. de diámetro (se observan perfectamente transparentes e incoloras), sin eritrocitos o muy escasos, las colonias abajo de la superficie son de forma lenticular y están rodeadas también de una zona de hemólisis, sin eritrocitos.

Clasificación del Estreptococo del Grupo "A", con la bacitracina. - Se hace en la forma siguiente: Se toman colonias de estreptococo hemolítico descritas en el párrafo anterior, se siembran en una caja de gelosa sangre de carnero, y en su superficie se coloca un disco de papel impregnado con 0.04 unidades de bacitracina, se observa al cabo de 24 horas a 37°C con CO_2 al 10%, una zona de inhibición del desarrollo de 15 a 20 mm. de diámetro, alrededor del disco, si el Estreptococo es del grupo "A". Sólo de 4 a 7% de los ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A" son relativamente resistentes a esta concentración de bacitracina.

Clasificación del Estreptococo del Grupo "A" por Inmunoflorescencia. - Este procedimiento proporciona un medio rápido y seguro para identificar al ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A", sin embargo, el procedimiento se efectúa en el laboratorio especializado o de referencia (28).

METODOS Y TECNICAS UTILIZADOS:

1.- Método de siembra directa en gelosa sangre de carneroMedio de cultivo de Gelosa sangre de Carnero:

Infusión de carne corazón.....	500 gr.
Triptosa.....	10 gr.
Cloruro de sodio.....	5 gr.
Agar.....	15 gr.
Sangre de carnero estéril.....	1 fco.

Preparación del medio:

Rehidratar el medio suspendido 40 gr. en 1000 ml. con agua destilada, disolver y calentar suavemente. Esterilizar en autoclave 15 minutos a 121°C. Cuando el medio esta estéril, enfriarlo a 45°C y adicionar al medio asépticamente sangre fresca estéril de carnero al 5%, homogenizar la mezcla y vaciarlo en cajas petri estériles, procurando que el líquido no tenga burbujas de aire y en condiciones estériles. El pH final del medio es de -- 6.8 (15).

Técnica de cultivo:

Se toma la muestra de la garganta con el hisopo de la manera ya indicada anteriormente; y se siembra directamente en las cajas de gelosa sangre de carnero, con el asa bacteriológica, - se estria para el aislamiento de la muestra y se pica el medio de cultivo con el objeto de obtener una mejor hemblisis. Se in-

cuba a 37°C durante 24 horas en atmósfera de CO₂ al 10%.

Se hace la lectura de las cajas en busca de beta hemólisis en caso de identificar al microorganismo, se resiembró las colonias en cajas de gelosa sangre de carnero y se le coloca un disco de bacitracina, incubándose a 37°C por 24 horas en atmósfera de CO₂ al 10%, para observar la presencia de un halo de inhibición de crecimiento de las colonias de ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO alrededor del disco de bacitracina. En caso de que no se identifique a este microorganismo en las cajas de gelosa sangre, se dejan éstas a temperatura ambiente otras 24 horas.

Esquema de la Técnica:- Figura No. 1, adjunto página 54

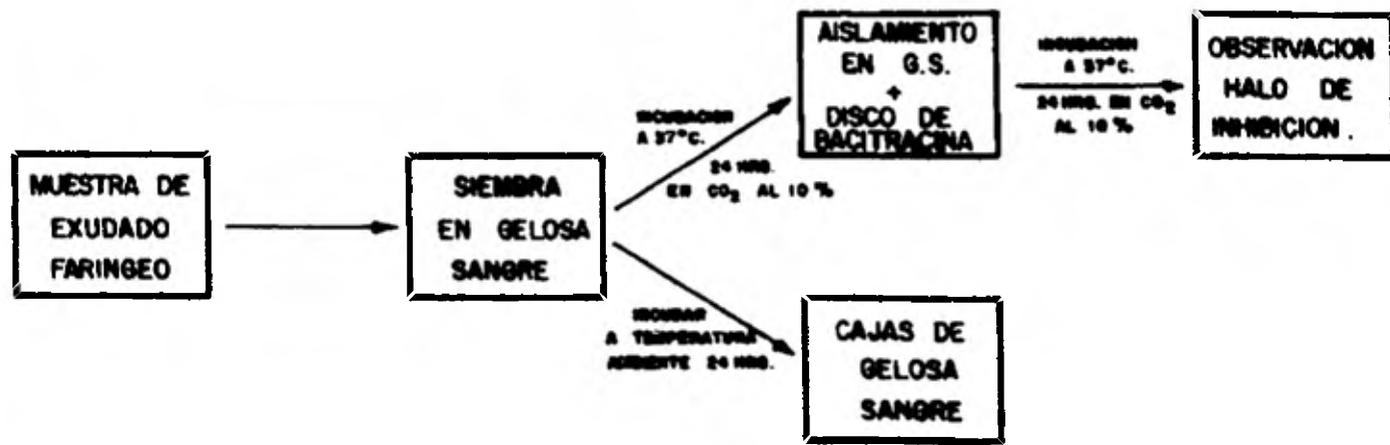


FIG. NUM. I.- METODO DE SIEMBRA DIRECTA.

2.- Método selectivo de Nakamiso y Soto :

Medio de cultivo de Caldo de Todd - Hewitt:

Infusión de corazón	500.0 g.
Peptona	20.0 g.
Dextrosa	2.0 g.
Cloruro de sodio	2.0 g.
Fosfato dipotásico	0.1 g.
Carbonato de sodio	2.5 g.

Preparación del medio:

Disolver 30 g. del material deshidratado en un litro de agua destilada. Distribuir en tubos de rosca con 2 y 5 ml. esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Medio de cultivo de Caldo de Enriquecimiento de Ureasa(C.E.U.):

Parte A

Caldo de infusión de corazón	2.5 g.
Triptosa (Difco)	0.5 g.
Extracto de levadura de cerveza	0.4 g.
Cloruro de sodio	2.75 g.
Carbón activado	0.2 g.
Agua destilada	100.0 ml.

Parte B

Saponina	0.1 g.
----------------	--------

Ureasa (250,000 E/G Merck 0.1 g.

Parte C

Solución acuosa de azida de sodio al 0.1% 10.0 ml.

Solución de DL-alcanfor en alcohol absoluto al 10% 0.5 ml.

El pH final de esta solución es de 6.8. Los componentes del caldo de infusión de corazón son: Extracto de infusión de corazón 50.0 g; Peptona 1.0 g; NaCl 0.5 g; 100.0 ml. de agua destilada (4, 38).

Preparación del medio :

Después de la parte "A" se esterilizó a 121°C por 15 minutos, se añade la parte "B" y se mezcla bien, se calienta a 100°C por 7 minutos en un recipiente con agua hirviendo con agitación constante para evitar que la ureasa se adhiera a la boca de matraz. Se enfría el caldo rápidamente al chorro del agua y se añade de la parte "C" a temperatura ambiente, vaciándose en tubos estériles en una cantidad aproximada de 2.0 y 5.0 ml.

Medio modificado de Agar Infusión de Corazón (M.A.C.):

Parte A

Agar infusión de corazón	4.0 g
Extracto de levadura de cerveza	0.5 g
Cloruro de sodio	2.5 g
Agua destilada	100.0 ml

Parte B

Solución acuosa de azida de sodio al 0.1%	10.0 ml
Solución acuosa de cristal violeta al 0.1%	0.2 ml
Urea	1.0 g.

El pH final de esta solución es de 6.8. Los componentes del Agar infusión de corazón son: Extracto de infusión de corazón -- 50.0 g; Peptona 1.0 g; NaCl 0.5 g; Agar 1.5 g en 100 ml. de agua destilada (4,38).

Parte C

Sangre de carnero estéril	1 Fco.
---------------------------------	--------

Preparación del medio:

Después de que la parte "A" se esterilizó a 121°C por 15 minutos, se añade inmediatamente la parte "B". Se enfría a 45°C y se añade la parte "C", en una proporción del 5 al 8%. Se mezcla bien y se vacía en cajas petri estériles (38).

Medio de Gelosa Sangre de Carnero:

La composición química y preparación del medio, son idénticas al método de Gelosa sangre siembra directa, la única diferencia es que este medio se utilizó en este método como medio de -resiembr.

Técnica de cultivo, para los medios de Nakamiso y Sato:

Se toma la muestra de la garganta con el hisopo estéril, el cual se introduce en el Caldo de Todd-Hewitt, se incuba durante

22 a 24 horas a 37°C, se añade 0.5 ml. de este cultivo a tubos - que contienen 2 y 5 ml. de Caldo Enriquecimiento de ureasa (C.E.U.) puede también introducirse el hisopo en el tubo con C.E.U. o no opcional, incubándose 37°C por 24 horas. De este crecimiento en C.E.U. se siembra en cajas que contengan Medio de Gelosa sangre y Medio Modificado de Agar infusión de corazón (M.A.C.) utilizando cuatro cajas por cada medio de cultivo y cuatro para cada volumen del medio de C.E.U., se incuban a 37°C durante 24 horas en presencia de CO₂ al 10% (método de la vela). Se observan las cajas, buscando las colonias características de beta hemólisis y en caso de encontrarlas, se resiembran en cajas petri que contengan Gelosa sangre y medio modificado de agar infusión de corazón (M.A.C.), colocando un disco de bacitracina de 0.4 unidades, se incuban por 24 horas con una atmósfera de CO₂ al 10% a 37°C, observando un halo de inhibición de crecimiento alrededor del disco.

En caso de no encontrarse colonias características de beta hemólisis en las cajas de 24 horas de cultivo, se guardan a temperatura ambiente durante 24 horas más, al cabo de ese tiempo se busca las colonias con beta hemólisis.

Esquema de la técnica de Nakamiso y Sato: Figura No. 2 ad -
junta página 59

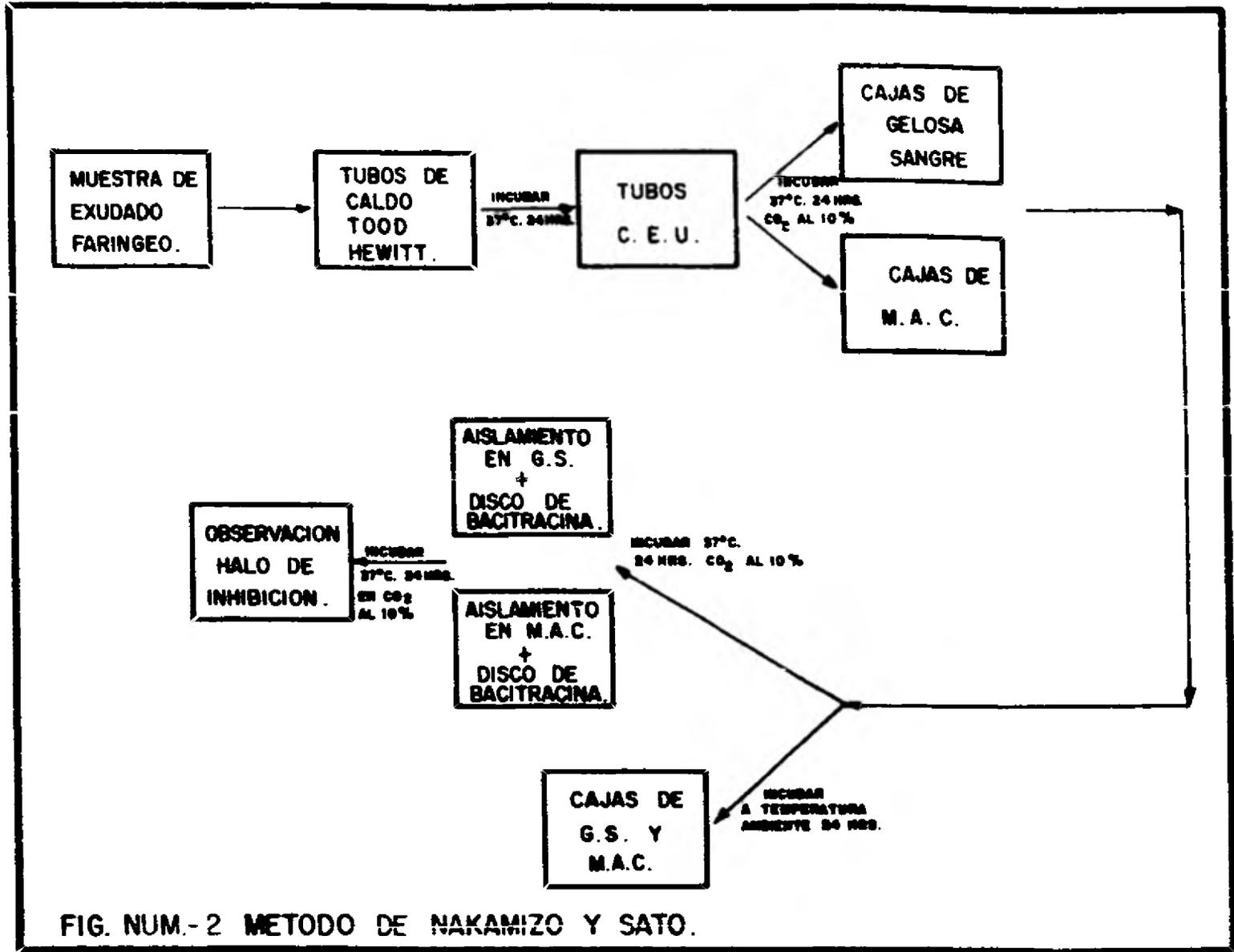


FIG. NUM.-2 METODO DE NAKAMIZO Y SATO.

3.- Método modificado, en este trabajo para obtener el cultivo en el menor tiempo posible.

Los medios de cultivo utilizados en esta modificación fueron:

Caldo de Enriquecimiento de ureasa (C.E.U.)

Medio Modificado de Agar infusión de corazón (M.A.C.)

Medio de Gelosa sangre

Los ingredientes y la preparación de estos medios son los mismos que en los métodos anteriores.

Técnica de cultivo, para el Método Modificado:

Se toma la muestra de la garganta con el hisopo estéril, y se introduce en el tubo que contiene 5 ml. de Caldo de Enriquecimiento de ureasa (C.E.U.), incubándose a 37°C por 24 horas. Se resiembrá después en cuatro cajas petri que contengan medio de Gelosa sangre y cuatro cajas con el Medio Modificado de Agar infusión de corazón (M.A.C.), incubándose a 37°C por 24 horas - en presencia de CO₂ al 10%. Se leen las cajas y se busca las colonias con beta hemólisis en caso de encontrarse, se resiembrá en Gelosa sangre y Medio Modificado de agar infusión de corazón (M.A.C.) con el disco de bacitracina con 0.4 unidades, incubándose a 37°C por 24 horas con CO₂ al 10% en caso positivo se observa un halo de inhibición de crecimiento adyacente al disco, en caso de no encontrarse las colonias con beta hemólisis en -- las cajas incubadas durante 24 horas, se dejan a temperatura en

biente por otras 24 horas.

Esquema de la técnica, para el método modificado: Figura -
No. 3, adjunta página 62

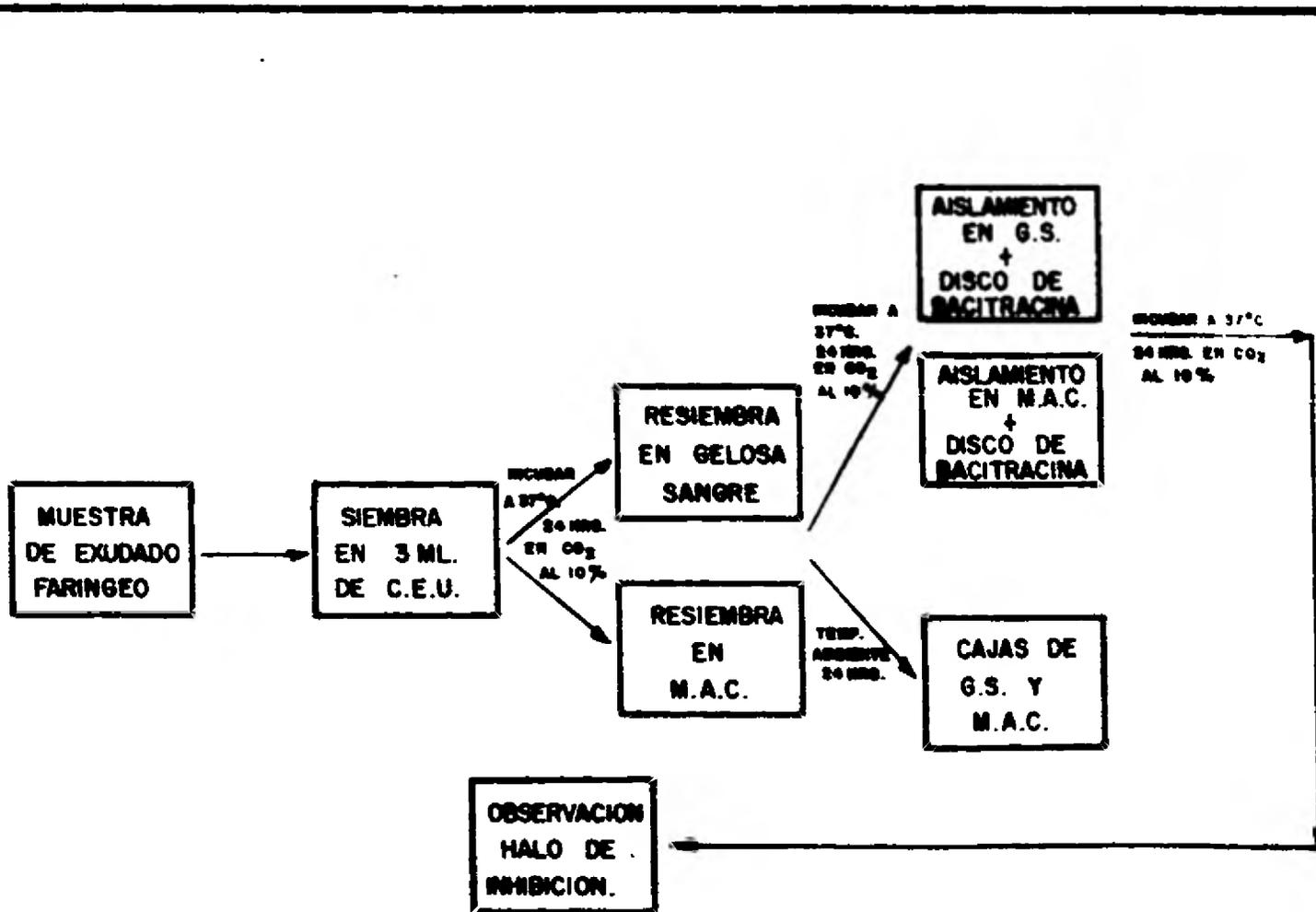


FIG. NUM. 3.- METODO MODIFICADO.

En todos los medios de cultivo utilizados en este trabajo se empleo cuatro cajas por medio, para así tener lecturas con resultados más confiables.

En los medios de cultivo que contiene sangre, se utilizó la sangre de carnero, debido a que está evita confusión entre la beta hemólisis debido a ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO de la producida por Haemophilus, además de inhibir su crecimiento. - La sangre de carnero es la ideal en estos cultivos, ya que -- cuando se utiliza la sangre humana existe confusión entre el - fenómeno de alfa hemólisis con la beta hemólisis, cuando, la - capa de agar sangre es muy delgada; además la sangre humana es usualmente citratada y algunas veces los iones de citrato son tóxicos para el crecimiento del ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO -; del Grupo "A" (47).

PRUEBA DE BACITRACINA.- Otra forma para identificar a los Estreptococos del Grupo "A", es la prueba de la sensibilidad - a la bacitracina propuesto por Maxted en 1953.

Este método se utiliza para diferenciar el ESTREPTOCOCO - BETA HEMOLITICO del Grupo "A" de otros Estreptococos.

En 1955 Levinson y Frank, usaron una concentración de bacitracina de 1 unidad y observaron que era adecuada. En 1974 - Washington propuso utilizar discos con concentración de 0-0.02 y de 0 - 0.04 unidades de bacitracina ya que encontró halos de inhibición de 10 mm. Por estudios hechos en el transcurso de - los años se ha encontrado que la concentración más adecuada -

de bacitracina para identificar bien al ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A", es de 0 - 0.04 unidades, dato que es apoyado por las investigaciones hechas, por la Administración de Drogas de Londres; actualmente todos los laboratorios que fabrican los discos de bacitracina tienen ya estandarizada esta concentración del antibiótico (14)

La bacitracina es un polipéptido obtenido de cepas de *Bacillus subtilis* y *Bacillus Licheniforme*, este último fue el primer microorganismo que se observó que producía dicha sustancia, la que suprime la síntesis de la pared celular en la etapa de polimerización de polisacáridos para la formación de mucopéptidos. La bacitracina es principalmente un bactericida para bacterias Gram positivas, incluyendo los organismos penicilino-resistentes (12).

Esta prueba fue descrita inicialmente por Maxted y puede hacerse la identificación provisional o presuntiva de Estreptococo del Grupo "A", por la inhibición selectiva de estas cepas por la bacitracina. La mayor parte de las cepas que no pertenecen al Grupo "A", se desarrollan en presencia de una concentración de bacitracina, la que puede aplicarse directamente en la placa primaria en la cual se inoculó el exudado faríngeo, si crecen muchas colonias de Estreptococos en la placa, podrá precisarse la sensibilidad por inspección de la zona inmediata ad

yacente al disco de bacitracina (47).

La incubación con dióxido de carbono, no altera la acción de la bacitracina o sea la mínima inhibición del *Estreptococo* por la bacitracina permite fácilmente, la lectura del punto final por que el crecimiento es lento (14).

En estudios realizados se ha visto que el *ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO* y el *Estreptococo salivarius* son inicialmente -- aislados de la garganta, siendo sensibles a la bacitracina pudiendo, por tal motivo existir confusión en cultivos primarios pero en los subcultivos hay una pérdida de beta hemólisis, resistentes a la penicilina y a la habilidad de crecimiento en medio de MacConkey (agar sales de bilis) por *Estreptococo salivarius*, propiedades que se emplean para diferenciarlo del *ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO* grupo "A" (48).

DETERMINACION DE ANTIESTREPTOLISINAS. - Como se mencionó antes, el cultivo de material faríngeo es útil, si se descubre *ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO* del grupo "A", cuando el cultivo suele ser negativo, sobre todo si se han administrado antibióticos la estimación de anticuerpos estreptocócicos es más útil porque alcanzan al máximo, poco después de aparecer el *ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO*, y porque son una indicación más definida de una infección reciente. En cambio el cultivo faríngeo -- puede seguir siendo débilmente positivo durante meses o tornarse positivo sin reacción demostrable de anticuerpos, lo cual - indica estado de portador y no infección reciente verdadera.

La probabilidad de descubrir un título aumentado de anti-estreptolisinas en un sujeto normal, varía según la epidemiología local de las infecciones estreptocócicas y la edad del paciente. Como indicación de protección algunos clínicos consideran importantes únicamente los títulos de 400 ó más unidades.

La Asociación de Cardiología, aconseja tomar en cuenta -- tanto la edad del paciente como el título de anticuerpos de -- 250 unidades o más si está elevado en adultos y el de 333 o -- mas si está elevado en niños mayores de 5 años de edad (5,21).

En casos poco frecuentes, títulos altos engañosos pueden depender de inhibidores y no de anticuerpos de Estreptolisina "O" como en los casos de hepatitis, obstrucción biliar y nefrosis o de contaminación intensa del suero. Esta prueba es útil para el diagnóstico de la fiebre reumática, la glomerulonefritis aguda y otras infecciones por ESTREPTOCOCCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A", ya que los anticuerpos aparecen en el suero y se pueden neutralizar in vitro añadiendo Estreptolisina purificada y usando como indicador la suspensión de eritrocitos (estreptolisina más anticuerpo-neutralización), que permanecen intactos (5,21,).

La Estreptolisina "O", usada fué la de los laboratorios - Beli, la cual se presenta en forma oxidada, estable, pero no es activa.

Reactivos utilizados.- Frasco de Estreptolisina "O", reconstituirla con 10 ml. de agua destilada.

Para cada 5 ml. de Estreptolisina "O" reconstituida, se adiciona el hidrosulfito de sodio contenido en los tubos capilares. Se agita por inversión, hasta que se disuelva y pase a su forma activa.

Solución amortiguadora que contiene 7.4 g de NaCl, 3.7 g de KH_2PO_4 y 1.81 g de Na_2HPO_4 en 1000 ml de agua destilada, ajustándose el pH a 6.0 - 6.7 con solución de NaOH 0.1 N.

Suspensión de glóbulos rojos al 5% humanos del Grupo "O" con solución amortiguadora; previamente lavados tres veces -- con solución salina al 0.85%.

Técnica. - Se hace una dilución del suero del paciente -- 1:50, en solución amortiguadora o sea 4.9 ml. de solución amortiguadora con 0.1 ml. del suero del paciente.

Se ponen 5 tubos de 12 x 75 mm. para cada suero del paciente; al primer tubo se le pone 0.6 ml. de solución amortiguadora y a los cuatro restantes 0.5 ml.

De la dilución 1:50 del suero, se coloca 0.4 ml. al primer tubo, mezclar y continuar con 0.5 ml. al segundo tubo, mezclar y continuar así a los siguientes tubos, hasta llegar al tubo cinco del que se desecha 0.5 ml.

A los cinco tubos se les agrega 0.25 ml. de Estreptolisina "O", ya activada.

Agitar e incubar a 37°C durante 15 minutos.

Se añaden a todos los tubos 0.25 ml. de glóbulos rojos - al 5%

Agitar suavemente e incubar a 37°C por 15 minutos, volver agitar suavemente e incubar a 37°C por 30 minutos.

Se hace la lectura del título de Antiestreptolisina "O" que se expresa en unidades Todd. La presencia de hemólisis en los tubos indica una prueba positiva correspondiente al primer tubo con 125 unidades Todd, el segundo 250 unidades Todd, al tercero 500 unidades Todd, 1000 unidades Todd al cuarto y el quinto 2000 unidades Todd (16,48).

4.- RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el aislamiento e identificación del ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO, al utilizar los diferentes métodos y medios de cultivo en el presente trabajo, se encuentran resumidos en la Tabla No. I (pág. 70).

Para la interpretación de los resultados, empleamos la técnica estadística de la Chi cuadrada (7), como una ayuda valiosa para que estos datos puedan de una manera práctica indicarnos, cual de los métodos de cultivo empleados, al compararlos con el método de cultivo tradicional de Gelosa Sangre, fue el mejor para el aislamiento del ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A". Dichos datos se encuentran agrupados en la Tabla Num. II (pag. 71).

TABLA NUM 1. - AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DEL ESTREPTOCOCO
BETA HEMOLITICO.

Método y medio de cultivo utilizado.	Núm. de Aislamientos positivos	Núm. de Aislamientos negativos.	Núm Total - de pacientes investigados
1) T.H. + C.E.U. ₂ +M.A.C.	35	90	125
2) T.H. + C.E.U. ₅ +M.A.C.	47	78	125
3) T.H. + C.E.U. ₂ +G.S.	30	95	125
4) T.H. + C.E.U. ₅ +G.S.	33	92	125
5) C.E.U. ₅ + G.S.	33	92	125
6) C.E.U. ₅ + M.A.C.	42	83	125
7) G.S.	23	227	250

T.H. = Caldo de Todd-Hewitt.

C.E.U.₂ = Caldo de enriquecimiento de ureasa, tubo con 2 ml.

C.E.U.₅ = Caldo de enriquecimiento de ureasa, tubo con 5 ml.

M.A.C. = Medio Modificado de agar infusión de corazón.

G.S. = Gelosa sangre de carnero

Los medios de cultivo 1, 2, 3, 4, 5, y 6 se trabajaron con 125 pacientes (1, 2, 3, y 4 con 125; 5 y 6 con otros 125) el 7 se utilizó para todos los pacientes o sea el total de 250.

TABLA NUM II.- RESULTADOS ESTADISTICOS EMPLEANDO EL METODO DE CHI CUADRADA PARA LA COMPARACION DE LOS DIFERENTES METODOS CON EL METODO DE GELOSA SANGRE.

Medio comparado 1 - 7

	(+) OB	ESP.	(-) OB	ESP.	TOTAL
T.H. + C.E.U. ₂ +M.A.C.	35	19.33	90	105.66	125
G. S.	23	38.66	227	211.33	250
	58	57.99	317	316.99	375

$$T = 12.70 + 6.34 + 2.32 + 1.16 = 22.52$$

$$\chi^2_{0.05} (1 \text{ gl}) = 0.00393$$

$$T > \chi^2 \therefore \neq \text{ MEDIOS}$$

Medio comparado 2 - 7

	(+) OB	ESP.	(-) OB	ESP.	TOTAL
T.H. + C.E.U. ₅ +M.A.C.	47	23.33	78	101.66	125
G. S.	23	46.66	227	203.33	250
	70	69.99	305	304.99	375

$$T = 24.01 + 11.99 + 5.50 + 2.72 = 44.25$$

$$\chi^2_{0.05} (1 \text{ gl}) = 0.00393$$

$$T > \chi^2 \therefore \neq \text{ MEDIOS}$$

Medio comparado 3 - 7

	(+) OB	ESP	(-) OB	ESP	TOTAL
T.H.+C.E.U. ₂ +G.S.	30	17.66	95	107.33	125
G.S.	23	35.33	227	214.66	250
	53	52.99	322	322.99	375

$$T = 8.65 + 4.30 + 1.41 + 0.709 = 15.03$$

$$X^2_{0.05} (1 \text{ gl}) = 0.00393$$

$$T > X^2 \therefore \neq \text{ MEDIOS}$$

Medio comparado 4 - 7

	(+) OB	ESP	(-) OB	ESP	TOTAL
T.H.+C.E.U. ₅ +G.S.	33	18.66	92	106.33	125
G.S.	23	37.33	227	212.66	250
	56	55.99	319	318.99	375

$$T = 11.02 + 5.50 + 0.966 = 19.41$$

$$X^2_{0.05} (1 \text{ gl}) = 0.00393$$

$$T > X^2 \therefore \neq \text{ MEDIOS}$$

Medio comparado 6 - 7

	(+) OB	ESP	(-) OB	ESP	TOTAL
C.E.U. ₅ +M.A.C.	42	21.66	83	103.33	125
G.S.	23	43.33	227	206.60	250
	65	64.99	310	309.99	375

$$T = 19.10 + 9.53 + 3.99 + 2.00 = 34.62$$

$$X^2_{0.05} (1 \text{ gl}) = 0.00393$$

$$T > X^2 \therefore \neq \text{ MEDIOS}$$

PARA LA COMPROBACION DE RESULTADOS IDENTICOS ENCONTRADOS:

Medio comparado 4 - 5

	(+) OB	ESP	(-) OB	ESP	TOTAL
T.H. + C.E.U. ₅ + G.S.	33	33	92	92	125
C.E.U. ₅ + G.S.	33	33	92	92	125
	<u>66</u>	<u>66</u>	<u>184</u>	<u>184</u>	<u>250</u>

$$T = 0 + 0 + 0 + 0 = 0$$

$$\chi^2_{0.05} (1 \text{ gl}) = 0.00393$$

$$T < \chi^2 \therefore = \text{MEDIOS}$$

(8, 18, 37).

A todos los pacientes, además de su exudado faríngeo se les practicó, el título de Antiestreptolisina, a cada uno, y se observó la media geométrica de los casos positivos y los negativos; por cada medio de cultivo utilizado. Estos datos se encuentran en la Tabla Núm III.

TABLA NUM. III.- MEDIA GEOMETRICA DE TITULO DE ANTIESTREPTOLISINAS.

<p>Total de unidades de Antiestreptolisinas en casos positivos.</p> $106,750 \div 243 = 439.3 \text{ U. Todd.}$
<p>Total de unidades de Antiestreptolisinas en casos positivos</p> $101,750 \div 757 = 134.4 \text{ U. Todd.}$

5.- DISCUSION DE RESULTADOS

En este capítulo, se discuten los datos obtenidos a partir de este estudio comparativo de los medios de cultivo para el -- aislamiento de ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO.

En la TABLA I, se observa que el mejor procedimiento de -- aislamiento fue el dos (T.H. + C.E.U.₅ + M.A.C.), luego le sigue el medio número seis, donde se omitió el T.H. (para dar el resultado en el menor tiempo), aquí se nota también un incremento de resultados positivos, a continuación le siguen los métodos cuatro y cinco, en los que se obtuvo el mismo resultado, notándose que el menos efectivo en este estudio fue el medio siete (G.S.).

En la interpretación de los datos, de la TABLA II, se encuentra que la notación $T > X^2$, indica que los medios de cultivo utilizados son muy diferentes, y cuando $T < X^2$ señala que los medios de cultivo son iguales, en cambio cuando $T = X^2$, se interpreta como que los medios de cultivo fueron utilizados al azar. Al aplicar esto, al presente trabajo se encontró que la probabilidad de los resultados, indica que todos los medios de cultivo son diferentes a excepción de dos medios de cultivo que son -- iguales.

Respecto a la TABLA III, al observar el valor de la media geométrica, del total de título de Antiestreptolisinas, el valor de los casos positivos es de 439.3 U. Todd, lo cual indica una infección activa por ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO y los

valores negativos que es de 134.4 U. Todd señalan títulos bajos, lo cual indica que no está presente el microorganismo patógeno.

Los medios de cultivo donde existió un mayor número de -- aislamientos positivos del microorganismo patógeno, fueron los diseñados por Nakamiso y Sato, concluyendo estos autores, que en su investigación encontraron que hay cuatro sustancias, que son primordiales para la proliferación del ESTREPTOCOCO BETA - HEMOLITICO y son de orden creciente la cianacetamida, urea, ácido úrico y ureasa.

Uno de los ingredientes del C.E.U., es el carbón activado que sustituye a la sangre animal, y es una sustancia que tiene la ventaja de ser resistente al calentamiento de la esterilización, es aprovechable en cualquier tiempo y puede estar disponible, por tiempo prolongado, en cambio la sangre de carnero no es estable al calentamiento, no siempre es aprovechable, ya que tiene un límite de actividad.

La ureasa es otro componente del C.E.U., que es destruida por calentamiento a 100°C por 7 minutos inactivando su acción en la urea, aunque se efecto promotor en el crecimiento del ES TREPTOCOCO BETA HEMOLITICO permanece. Con la adición de ureasa y una concentración elevada de NaCl al 3% que tiene este medio no prolifera ningún otro microorganismo.

La azida de sodio, el cristal violeta, el DI-alcanfor y la saponina, se usan como inhibidores de gérmenes contaminantes como el Estafilococo de la garganta; la saponina aunque --

causa hemólisis en la sangre, aquí no actúa debido a que se uti liza en la preparación de un medio de cultivo de resiembra.

Se recomienda que el medio de C.E.U., sea removido del re- frigerador a los 4 a 5 días; ya que con más tiempo disminuye el crecimiento del ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO.

El medio de cultivo de M.A.C. contiene cristal violeta y - urea; el primero se utiliza para inhibir al Estafilococo, la se gunda para activar el crecimiento del ESTREPTOCOCO BETA HEMOLI- TICO, este medio es usado para inhibir, el crecimiento de Esta- filococo y otros contaminantes que hayan proliferado en el me - dio de C.E.U. y favorecer al desarrollo del ESTREPTOCOCO BETA - HEMOLITICO.

Es necesario que la incubación del medio de C.E.U. se lle- ve a cabo en tubos con tapón de rosca, así como también que la incubación de las cajas de medio M.A.C. se haga en atmósfera de CO_2 al 10%, para así lograr un mayor desarrollo e identifica -- ción del ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO.

La incubación en el C.E.U. y en el M.A.C., aumentaron en - forma muy importante la frecuencia de aislamientos con la ayuda del Caldo de Todd-Hewitt.

En el presente trabajo se observó que los medios de culti- vo de Nakamiso y Soto son efectivos y activan el crecimiento de ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO, pero presentan varias desventajas entre ellas, los ingredientes de los medios de cultivo deberán ser los originales, que indican los autores, la preparación de dichos medios es un poco laborioso y la sangre de carnero debe

ser fresca.

En cuanto a su costo, estos medios de cultivo son un poco caros en comparación con el de Gelosa sangre, debido a que sus ingredientes son difíciles de adquirir en el mercado.

El procedimiento menos confiable para identificar al *ES -- TREPTOCOCO BETA HEMOLITICO*, encontrado en este trabajo fue el de inoculación directa en Gelosa sangre de carnero, ya que de 250 pacientes investigados, se obtuvieron 23 aislamientos positivos de *ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO* y 227 aislamientos negativos.

El método modificado se llevó a cabo al observar que en el tubo con 5 ml. de C.E.U., se obtuvo un mayor crecimiento del microorganismo, con lo cual se omitió el paso de incubar en Caldo de Todd Hewitt, para así tener el resultado en el menor tiempo. En esta modificación del método se observó que también hay un elevado índice de crecimiento del microorganismo buscado, aunque la diferencia de casos positivos es de cinco cultivos (ver tabla 1, procedimientos 2 y 6), se puede y a voluntad omitir el paso, ya que habría poco desarrollo de la bacteria, en este método.

En el artículo de Nakamiso y Sato, se señala que después de 11 a 87 horas que ha empezado el paciente con un tratamiento antimicrobiano, el *ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO* crece en estos medios de cultivo; aunque no se interrogó a los pacientes acerca de la aplicación de un tratamiento con antibióticos, supongo que esto se llevo a cabo, ya que los exudados faríngeos de di -

chos pacientes no mostraban desarrollo de ESTREPTOCOCO BETA - HEMOLITICO al ser inóculados a las cajas petri que contenian el medio de Gelosa sangre de carnero.

El alto índice de cultivos positivos que se obtuvieron - en este trabajo, puede atribuirse en parte a que la toma de - muestras de exudados faríngeos se llevó a cabo en el período de diciembre a mayo, meses en donde las frecuencias máximas - estreptocócicas, siendo raras las infecciones en el verano.

Estos medios de cultivo, debido a su naturaleza selectiva son bastantes efectivas en el aislamiento e identificación del ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO y aunque presentan ciertos - inconvenientes en su preparación y uso, son de recomendarse debido a los buenos resultados que se obtienen de ellos.

También a cada paciente se le practicó su título de anti - cuerpos estreptocócicos, obteniéndose un título alto arriba - de 333 U. Todd, indicando una infección estreptocócica actual a ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO del Grupo "A". Un título superior a 500 U. Todd suele registrarse en la Fiebre reumática y en pacientes que han pasado de un estado crónico de estreptocócica.

6.- RESUMEN

EL ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO, es uno de los microorganismos que constituyen el grupo de bacterias piógenas. Este microorganismo tiene la capacidad de producir hemólisis al crecer en un medio de cultivo que contenga sangre.

En su metabolismo produce productos tóxicos y enzimas entre las cuales se encuentran la estreptolisina "O" y "S", la toxina eritrogénica, la estreptoquinasa, estreptodornasa y hialuronidasa.

Entre las enfermedades que produce, se encuentran las escarlatina, erisipela, fiebre puerperal, faringitis, impétigo - sinusitis, otitis media, mastoiditis, adenitis cervical supurada, meningitis, endocarditis, pielonefritis, glomerulonefritis y fiebre reumática.

Para su tratamiento de erradicación, la droga de elección es la penicilina, en caso de ser el paciente alérgico a ella, se utiliza la eritromicina.

En este estudio se tomaron 250 exudados faríngeos de los pacientes y se les extrajo sangre para titular la concentración de sus antiestreptolisinas.

Dichos exudados fueron inculcados a diferentes medios de cultivo, que fueron:

- 1) El de Gelosa Sangre, Método de siembra directa.
- 2) Dos medios de cultivo diseñados por Nakamiso y Sato, que son el C.E.U. y el M.A.C. con la ayuda del Caldo -

de Todd Hewitt.

- 3) Método modificado, omitiendo la incubación del germen con el caldo de Todd-Hewitt, con el propósito de aislar al Estreptococo en menor tiempo.

Se encontró que los dos medios de cultivo de Nakamiso y Sato dan el mejor aislamiento de ESTREPTOCOCCO BETA HEMOLITICO, en segundo lugar le sigue el Método modificado en este trabajo, y en tercer lugar el medio de Gelosa sangre de carnero.

Cabe señalar que aunque la preparación de estos medios de cultivo, su costo es mayor, se obtienen resultados satisfactorios en el aislamiento e identificación del ESTREPTOCOCCO BETA HEMOLITICO al compararlos con el de Gelosa Sangre de carnero.

A cada paciente, se le practicó su título de anticuerpos estreptocócicos, encontrándose que en los casos positivos coinciden con un elevado índice de anticuerpos así como en los casos negativos se encuentran bajos dichos anticuerpos.

Se recomienda que de acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se trate de implantar el Método de Nakamiso y Sato, para el diagnóstico e identificación del ESTREPTOCOCCO BETA HEMOLITICO.

7.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Amezcua Fco. J. y Aranda O. S.
La Fiebre Reumática en el escolar. Su prevención en el IMSS
Salud Pública de México. Epoca V, Vol. XIII Núm 4.
Julio-Agosto pp 477-481. 1971.
- 2.- Bailey W., y Scott E. G.
Diagnóstico Microbiológico.
3a Ed. Edit. Médica Panamericana. Argentina
pp 162-173. 1973.
- 3.- Basilia H., y Neri H.
Algunos aspectos de la epidemiología de la fiebre reumática
en México.
Bol. Méd. Hosp. Infant. México 12: 213-216. 1960.
- 4.- BBL. *Manual de Procedimientos de Laboratorio y Productos.*
Editores asociados, S. A. pp 6. 1974.
- 5.- Beeson P. B. y McDermott W.
Tratado de Medicina Interna
13a Ed. Edit. Interamericana. México
pp 170-186. 1972.
- 6.- Bernard D. y Dulbeco M. D.
Tratado de Microbiología.
2a Ed. Edit. Salvat. México.
pp 730-749. 1978.

- 7.- Blanco de la Mora E.
La Bioestadística en Farmacología Clínica.
Investigación Médica Internacional 4:21 - 24. 1977
- 8.- Bradford, Hill.
Principios de Estadística Médica.
3a. Ed. El Ateneo. Argentina.
pp 157-163. 1965
- 9.- Braunstein H., Tucker E., and Gibson C. B.
Infections Caused by unusual Beta Hemolytic Streptococci.
Am. J. Clin. Pathol. 55(4): 424-430. 1971.
- 10.- Breeaw B. B.
A simple scorecard for the tentative diagnosis of streptococcal pharyngitis.
Am. J. Dis. Child. 131:514-517. 1977.
- 11.- Buchanan E. R. and Gibbons F. N.
Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.
8th Ed. The Williams and Wilkins Company. Baltimore 1974.
- 12.- Burdon K. L. R. and Williams P.
Microbiología.
1a Ed. Publicaciones Culturales México.
pp 132-530. 1974.

- 13.- C. Mohan, N. K. Gaunguly, N. L. and Chikara R. N.
Colonial Morphology of group A Beta Haemolytic Streptococcal. L-forms in Light Microscopy.
Indian. J. Med Res. 63, 12 december pp 1712-1725. 1975.
- 14.- Coleman D. J., MacChie D., and Tebbutt M.
Further studies on the reliability of the bacitracin inhibition test for the presumptive identification of Lancefield Group A Streptococci.
Am. J. Clin Path 30:421-426. 1977.
- 15.- Difco Manual of dehydrated culture media and reagents for Microbiological and clinical laboratory procedures
9a Ed. Michigan U. S. A. 1953.
- 16.- Dixon J. M. S. and Lipinski A. E.
Infections with Beta-Hemolytic streptococcus resistant to lincomycin and erythromycin and observations on zonal pattern resistance to lincomycin.
The Journal of infections diseases Vol 30 No. October 351-356. 1974.
- 17.- Duncan J., and Mason L.
Characteristics of Streptolysin S hemolysis
Infection and Immunity Vol 14 No. 1:77-82. 1976.
- 18.- Duncan R. C.
Estadística
Ed. Panamericana pp 133-149. 1976.

- 19.- Easmon C. S. F., Suzanne E. Cox and Howard A.
Grouping of beta haemolytic streptococci by agglutination.
J. Clin. Path. 33:386-389. 1980.
- 20.- Ermocilla R., Cassady G., y Ceballos R. M. D.
Otitis media in the pathogenesis of neonatal meningitis with Group B Beta-hemolytic streptococcus.
Pediatrics 54 (5): 643-644. 1974.
- 21.- Farreras y Rozaman
Medicina Interna
Ed. Marín. Tomo II. México pp 454-844. 1978
- 22.- Fattorusso V. y Ritter O.
Vademecum Clínico del Médico práctico
3a Ed. Edit. El Ateneo México. pp 1133-1137. 1973.
- 23.- Figueiredo A. M., and Benchetrit L. C.
Evaluation of the El-Kholy technique for grouping beta hemolytic Streptococci.
Rev. Bras. Pesqui. Med. Biol. 13 (1-3):21-24. 1980.
- 24.- Giono S. C., Barraza A. S., y Castro H. A.
El estreptococo y la fiebre reumática.
Rev. Lat. Amer. Microbiol. México 16:111-121. 1974.
- 25.- Gordon L. B.
Lo esencial de la inmunología.
Ed. El manual moderno 2a Ed. México pp 50-73. 1975.

- 26.- Gururaj. V. Russo M. R. y Cols.
Triacetileandomicina en infecciones faringicas por Estreptococo.
Investigación Médica Internacional pp 262-265. 1976.
- 27.- Heling B., Brand A., Fuks E., and Bergner S.
The frequency of appearance of beta-hemolytic streptococci in the tonsillar fossa and gingiva related to route of penicillin.
J. Oral Med. 25 (3); 84-86. 1970.
- 28.- IMSS. *Manual de Procedimientos. Laboratorio Clínico México* 1978.
- 29.- IMSS. *Programa de prevención y control de la fiebre reumática.*
Criterio de Jones. Criterio de Detección.
México 1978.
- 30.- *Indicaciones para el uso de la Estreptolisina "O"*
Beli. Lab. Beli S. A. México.
- 31.- Jawetz E., Melnick J. L., y Adelberg E. A.
Microbiología Médica.
7a Ed. El manual moderno. México pp 195-206. 1977.
- 32.- Kilbourn J. P., Nyiendo J., and Hanhan G. A.
A medium for the transportation and isolation for beta-hemolytic Streptococci.
J. Am. Med. Technol. 40 (3); 141-145. 1978.

- 33.- Koshi G., K. N. Brahmadathan., C. P. Thangavelu and - -
Pandian R.
Evaluation of different methods for the transport of swabs for Streptococci.
Indian. J. Med. Rev. 69 January: 26-31. 1979.
- 34.- K. Prakash., P. C. Ravindran and K. B. Sharma.
Production of Streptocines by Beta haemolytic Streptococci isolated from Human sources.
Indian J. Med. Rev. 619 Sept: 1261-1264. 1973.
- 35.- Ledger, J. W. and Headington T. J.
Group a Beta-Hemolytic Streptococcus.
Obstet, Gynecol. Vol 39 No. 3:474-482 March 1972.
- 36.- Lynch, M. J., Mellor L. D., y Spare P. D.
Métodos de Laboratorio.
2a. Ed. Edit. Interamericana S. A. México pp 911-977. 1972
- 37.- Murray R. Spiegel.
Estadística.
Libros McGraw-Hill. México pp 201-211. 1961.
- 38.- Nakamiso Y., y Sato M.
New selective media for the isolation of streptococcus hemolyticus.
Am. J. Clin. Path. 57:228-235. 1972

- 39.- Randolph M. F. Redys J. J., Cape J., and Morris K. E.
Streptococcal Pharyngitis. Evaluation of a new diagnostic kit for clinic and office use.
Am. J. Dis. Child 130:171-172. 1976.
- 40.- Rodríguez A., Trujillo H.
Cefatrizina en infecciones respiratorias infantiles.
Investigación Médica Internacional 4:185-187. 1977
- 41.- Rodríguez S. R.
Diagnóstico y tratamiento de las infecciones estreptocócicas.
Bol. Méd. Hosp. Infant. México 26:493-502. 1969.
- 42.- Rodríguez S. R.
Factores que influyen en las recaídas de las infecciones Estreptocócicas.
Bol. Méd. Hosp. Infant. México 26:503-510. 1969
- 43.- Rojas, W. M.
Immunología
3a Ed. Edit. Fondo Educativo Interamericana S. A. Colombia. pp 114-134. 1976.
- 44.- Rosa P. W., A. Nicoll and. C. G. Gunning.
Use of the Streptosec Test for grouping beta hemolytic-Streptococci.
J. Clin. Pathol. 33: 691-693. 1980.

- 45.- Shapiro S., Heling B., Brand-Aurban A., Fuks E., and Berner S.
Oral Hygiene and Beta-hemolytic streptococcal carrier states during penicillin prophylaxis for rheumatic fever.
J. Oral. Med. 25 (1): 18-20. 1970.
- 46.- Silenzi, M.
Diagnosi immunologica della faringite streptococcica nell'infanzia.
Minerva. Pediatr. 28:2129-2136. 1976.
- 47.- Stollerman H. G.
The role of the selective throat culture for beta hemolytic Streptococci in the diagnosis of acute pharyngitis.
Am. J. Clin. Path. January Vol. 37 No. 1:36-40. 1962.
- 48.- Tapsall J. W. and Chan C.
Beta hemolytic Bacitracin sensitive strains of streptococcus salivarius a source of confusion with Streptococcus pyogenes in throat swab cultures.
Pathology 12(3):403-406. 1980.
- 49.- Tiesler E. and Trinks U.
The production of Streptolysin "O" beta hemolytic Streptococci of Group A
Inst. Hyg. Microbiol. 245 (1-2):17-24. 1980.

- 50.- Vergara J., Peral-López A. M. y Ruiz Reyes G.
Las contraelectroforésis aplicada a la clasificación serológica de Streptococcus beta hemolítico.
Rev. Lat. Amer. Microbiol. 16:205-208. 1974.
- 51.- Zapatero, E.
Microbiología Médica
7a Ed. Edit. Sever Cuerta. España
pp 209-217. 1974.
- 52.- Zinsser, H.
Microbiología.
4a Ed. Edit. U.T.E.H.A. México.
pp 519-570. 1971.