



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
" Z A R A G O Z A "**

ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD DE Streptococcus pyogenes
A ANTIBIÓTICOS EN HABITANTES DE CD. NEZAHUALCOYOTL

T E S I S

Que para obtener el Título de
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P r e s e n t a

JUAN PEDRO ANTONIO HERNÁNDEZ

Asesor: Q.F.B. Martha Sánchez Rodríguez





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.

C O N T E N I D O

1.	INTRODUCCION.	1
2.	FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA.	41
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	46
4.	OBJETIVOS.	50
5.	HIPOTESIS.	50
6.	MATERIAL Y EQUIPO.	51
7.	METODOS Y TECNICAS.	55
8.	RESULTADOS.	65
9.	ANALISIS DE RESULTADOS.	69
10.	CONCLUSION.	74
11.	ANEXOS.	76
12.	BIBLIOGRAFIA.	79

1. INTRODUCCION

1.1. AMIGDALITIS

Las amígdalas son parte del conjunto de tejido linfático llamado anillo de Waldeyer, que rodea la nasofaringe y sirve como órgano protector. Al igual que todo el anillo de Waldeyer, las amígdalas son tejido linfoide de importancia inmunológica, produciendo desde el nacimiento diversos tipos de células que desempeñan funciones de inmunidad, tanto celular como humoral y debido a su situación anatómica constituye la primera defensa frente a diversos antígenos bacterianos y virales.

A las inflamaciones de las glándulas linfáticas faríngeas se les denominan amígdalitis, y estas pueden ser causadas por diversos agentes patógenos provocando infecciones agudas o crónicas.

Anatómicamente es muy difícil distinguir una faringitis de una amígdalitis y debido a que los agentes etiológicos son los mismos una infección puede llevar a la otra, algunos autores hablan indistintamente de una faringitis y de una amígdalitis. Otros más hablan de faringoamígdalitis, entendiéndose por esto como la inflamación tanto de la faringe como

de las amígdalas (42, 43).

1.1.1. Epidemiología

La frecuencia de amigdalitis es notable en la población en general, pero se encuentra más marcada en las edades pediátricas. Este tipo de proceso ocupa el primer lugar de morbilidad en cuanto a enfermedades transmisibles exclusivamente con puerta de entrada respiratoria con una tasa de poco menos del 50%. (42)

Se ha encontrado que el 24% de estos casos se encuentran en el grupo de 1 a 4 años, siguiéndole en frecuencia el de 5 a 14 años y después el de 15 a 44 años. Los otros grupos (menores de 1 año y mayores de 45 años) sólo tienen un pequeño porcentaje del 3% aproximadamente. Esta distribución posiblemente tenga relación con el contacto de niños a temprana edad con el agente etiológico en guarderías o jardines de niños donde se disemina rápidamente.

Es evidente que la alta frecuencia de la enfermedad puede ser debida a dos factores: 1) el mal tratamiento y manejo de la infección, 2) los tratamientos incompletos por parte de los familiares de los pacientes. El primer grupo comprende la automedicación realizada por la mayoría de la población o una mala medicación recetada por algún médico. En el segundo-

grupo entra el abandono del paciente a una terapia antimicrobiana adecuada por "sentirse bien", no sabiendo que la infección puede continuar de manera latente y provocarle recaídas o complicaciones.

Esta infección puede considerarse como endémica durante todo el año agudizándose en los meses fríos. También se debe tomar en cuenta los portadores sanos o asintomáticos los cuales generalmente asisten a lugares concurridos ocasionando la diseminación de los agentes etiológicos de esta infección. (21, 42, 43).

1.1.2 Etiología

Los agentes etiológicos de éste tipo de infección pueden ser virales o bacterianos. Dentro del primer grupo, podemos encontrar principalmente a los adenovirus y a los virus del grupo herpes y coxsackie A. En el segundo grupo podemos encontrar una gran variedad de bacterias, como son: Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, Bordetella pertussis y Mycoplasma pneumoniae a los que sólo se les debe tomar en cuenta cuando se encuentren como bacteria predominante en un cultivo de exudado faríngeo. (21, 27)

Las bacterias que tienen mayor implicación en ésta patología son el Corynebacterium diphtheriae y el estreptococo be

ta hemolítico. El primero produce un síndrome específico de - severas características, cuya frecuencia actual es relativa, - gracias a las campañas de inmunización a nivel nacional y cuya descripción no corresponde a éste tema más que como una refe-- rencia secundaria en el diagnóstico diferencial.

Por lo que respecta al estreptococo, se dice que el - medio familiar es un sitio importante para su transmisibilidad así como los malos hábitos de higiene lo favorecen sobre todo- en las temporadas frías del año. Se han reportado aumentos en su aislamiento en familias en las que existe una persona infec- tada. Es por esto que se recomienda realizar un cultivo de - exudado faríngeo a todos los miembros de una familia a la que a uno se le ha diagnosticado faringoamigdalitis por estreptoco-- cos beta hemolítico. (43)

1.1.3. Patogenia y Fisiopatología

Existe la participación de varios eventos que pueden- desencadenar el inicio de la infección, siendo uno de los más- importantes la simbiosis huésped-agente, ya sea a través de la disminución de las defensas del individuo (organismo immuno- - comprometido) o la presencia de contagio importante que alte- ra la ecología de la faringe. (42)

Después de entrar el agente, se implanta directamente

sobre la mucosa. En el caso de Streptococcus pyogenes, este posee una adhesina, ácido teicoico, unido covalentemente a un lípido (ALT) el cual tiene como lectina al poliglicerolfosfato (PGP), que reconoce al receptor en la superficie de las células del huésped. El sitio específico para esta bacteria en particular, está formado por proteínas semejantes a la albúmina. Este tipo de unión es posible debido a que la molécula de ALT está en constante tránsito a través de la pared celular, además, por su carácter polianiónico, la parte terminal de la molécula (el lípido de PGP), puede formar complejos con cargas positivas en la superficie de la pared celular. (10)

In vitro cuando se agrega albúmina a un cultivo de Streptococcus pyogenes, se impide la adherencia, ya que la molécula terminal (PGP) de ALT está bloqueada. Asimismo se ha demostrado la presencia de complejos entre ALT y proteína M, lo cual igualmente dejaría al lípido terminal del PGP para unirse específicamente al receptor. In vivo no se tiene una evidencia exacta, se piensa que el receptor podría ser una glucoproteína que compartiera los sitios de unión ácida semejantes a los observados con la albúmina in vitro (10).

Una vez en la mucosa, el agente etiológico bacteriano produce las manifestaciones clínicas por medio de toxinas; en el caso de los virus es por acción directa. La diseminación puede ocurrir por contigüidad.

Ante la infección, el tejido amigdalino responde con una infiltración de leucocitos polimorfonucleares (PMN), mayor producción de monocitos y gran número de centros germinales, - por lo tanto linfocitosis local, presentándose fibrosis y engrosamiento gradual de la cápsula en las infecciones bacterianas repetidas. Los restos epiteliales y los cúmulos celulares obstruyen las criptas amigdalinas hasta producir retención ya sea en forma de quistes que mantienen la infección dentro del mismo tejido o como colección de detritus que se elimina espontánea y gradualmente. Una amígdala puede hipertrofiarse en -- las fases agudas de la enfermedad y posteriormente, después de la recuperación, volver a su tamaño original. El tejido amigdalino también puede sufrir, principalmente en los adultos, fi brosis granular, presentándose atrofia con signos infecciosos. (42, 43)

1.1.4 Cuadro Clínico

El paciente presenta fiebre de intensidad variable e incluso puede no presentarla, sobre todo en una infección viral. Hay un mal estado general, anorexia, artralgias, mial- - gias, cefalea de severidad variable, escalosfríos, dolor que - puede ser tan intenso que impida la deglución, en ocasiones do- - lor abdominal y vómitos.

La exploración física revela una faringe hiperémica -

edematosa, con exudado purulento, pueden presentarse membranas o úlceras; generalmente hay crecimiento de ganglios linfáticos de las cadenas cervicales. Las membranas estreptocócicas son de color blanco grisáceo, pueden estar circunscritas en la superficie de las amígdalas o extenderse hasta la faringe y pueden confundirse con las diftéricas. (21, 27)

1.1.5. Diagnóstico de Laboratorio

Para el diagnóstico de laboratorio se debe realizar una diferenciación de faringoamigdalitis estreptocócica de la no estreptocócica, esto en función de la importancia que tiene la primera en cuanto a complicaciones se refiere. Además del cuadro clínico se debe apoyar en los métodos generales de laboratorio: bacteriológicos y serológicos, es decir el aislamiento e identificación de la bacteria, así como la demostración de un título alto de anticuerpos específicos en el paciente contra los metabolitos y componentes antigénicos de la bacteria. Además, aunque de poco valor específico, la presencia de leucocitosis con neutrofilia en la citología hemática apoyaría la posibilidad de una participación bacteriana. (42)

El aislamiento de Streptococcus pyogenes es difícil y sólo se logra en un 40-60% de los casos. Por lo que un sólo cultivo negativo no excluye totalmente la infección estreptocócica, siendo importante para aumentar la posibilidad de un

cultivo positivo, la nula administración de antimicrobianos, - realizar el análisis en ayunas, sin aseo bucal y frotando fuer^{te}mente el hisopo en ambas amígdalas y la faringe posterior, - evitando siempre la contaminación del hisopo con saliva. (11, - 28)

En la interpretación del estudio bacteriológico para- apoyar el diagnóstico de infección por C. diphtheriae, deben re- cordarse la presencia de difteroides como flora normal mismos- que son indistinguibles del productor de difteria. También se debe tomar en cuenta que una técnica inadecuada y el uso de an- tibióticos previos son factores de error en el cultivo de la - bacteria.

Otros exámenes correlacionados con infección estrepto- cócica, lo constituyen la determinación de antiestreptolisi- - nas, proteína "C" reactiva y la velocidad de sedimentación glo- bular. Estas dos últimas pruebas son inespecíficas y cual- - quier otro proceso inflamatorio y la necrosis tisular pueden - determinar su positividad.

Debemos hacer incapie en que estos estudios general- - mente son solicitados en casos rebeldes al tratamiento o cuan- do se sospecha de complicaciones en el proceso infeccioso. - - (11, 21, 43)

1.1.6. Complicaciones

En las infecciones de etiología viral, la complicación más frecuente es la infección bacteriana. En general, se dice que se pueden desarrollar complicaciones de tipo local y de tipo sistémico. En el primer grupo encajan la sinusitis, otitis, absceso periamigdalino o retrofaríngeo y neumonía, que tienen cuadros clínicos bien definidos. En el segundo grupo caen las complicaciones de los casos de infección estreptocócica como son la fiebre reumática y la glomerulonefritis aguda, los cuales también presentan un cuadro clínico característico que permiten establecer el diagnóstico en la mayoría de los casos. (11, 21, 42, 43)

1.1.7. Prevención y Tratamiento

La prevención de esta patología se basa principalmente en las características epidemiológicas y de transmisibilidad de los agentes virales y bacterianos. Es decir; por medio de educación higiénica, evitando aglomeraciones y procurando aislar a los enfermos para evitar su diseminación; ésto es muy difícil ya que las infecciones se presentan antes de dar manifestaciones clínicas y además, la mayoría de las personas deben asistir a sus centros de trabajo o de estudio más por fuerza que por ganas.

También se ha pretendido utilizar la formación de anticuerpos secretorios buscando vacunas que se apliquen por la vía de entrada natural de la infección, pero se han tenido problemas de tipo técnico como; duración de la inmunidad, efectos colaterales dificultad para cuantificar anticuerpos, purificación del producto, etc.; por lo que no se han utilizado en forma sistemática.

En cuanto al tratamiento de las faringoamigdalitis viral es puramente sintomático, manteniéndose una vigilancia estrecha por la posibilidad de asociación secundaria de gérmenes bacterianos.

El tratamiento de elección para los procesos estreptocócicos continúa siendo la penicilina administrada durante un período no menor de 10 días. Si existe alergia a la penicilina, el antibiótico de elección lo constituye la eritromicina a dosis de 30-40 mg/Kg/cada 8 horas durante 10 días. (9, 21, 27)

1.2. STREPTOCOCCUS pyogenes

1.2.1. Morfología

Microscópicamente Streptococcus pyogenes son cocos redondos u ovals, que debido a su forma de multiplicación (Anexo A), se encuentran solos, en pares, cadenas de cocos o -

de diplococos de longitud variable según las condiciones de cultivo. Las células son pequeñas, generalmente menor de una micra de diámetro. Son grampositivos, no esporulados e inmóviles, presentan fimbrias y forma cápsula compuesta por ácido hialurónico.

El desarrollo macroscópico o colonial da como resultado colonias pequeñas, (aprox. 0.5 mm de diámetro) de un color blanco gris opaco, convexas, de consistencia un poco dura que permite su desplazamiento sobre la placa sin romperse y rodeadas de un halo de betahemólisis en agar sangre de carnero al 5%. (11, 28)

1.2.2. Fisiología

Son microorganismos difíciles de aislar y se requiere de medios enriquecidos (BHI, soya tripticasa, A. sangre, etc.) para su aislamiento. Solamente algunas cepas logran desarrollarse sobre un medio químicamente definido que debe contener unos 15 aminoácidos, todas las vitaminas del complejo B, purinas, pirimidinas y sustancias de tipo péptido, pero en estos medios no se producen muchas de las enzimas y toxinas que habitualmente producen estos microorganismos.

Son anaerobios facultativos, no reducen nitratos, son catalasa y oxidasa negativos, propiedades que los distinguen -

de lo estafilococos. No fermentan la inulina y no son disueltos por bilis, circunstancias que los distinguen de Streptococcus pneumoniae. Estos microorganismos quimiorganotrofos, por la fermentación de carbohidratos forman ácidos láctico (que acidifica el medio y limita el desarrollo), acético y fórmico, etanol y CO₂. Son sensibles a bacitracina y no hidrolizan el hipurato. (28, 30, 31)

1.2.3. Antigenicidad

Las diferencias antigénicas del carbohidrato "C" entre los estreptococos llevó a Rebeca Lancefield a clasificarlos en diferentes grupos: al grupo A pertenece el Streptococcus pyogenes, principal patógeno del género Streptococcus para el hombre. El carbohidrato "C" (N-acetilglucosamina para estreptococos del grupo A) se encuentra en la pared celular de la bacteria y ocupando un lugar más accesible que éste se encuentra la proteína M en la superficie de las fimbrias. Esta proteína junto con la cápsula de ác. hialurónico es esencial para la virulencia y la capacidad de resistir a la fagocitosis. En función a la proteína M se han establecido más de 50 tipos dentro del grupo A y aún quedan otros no tipificados. La proteína M es antigénica y produce anticuerpos de inmunidad tipo específica.

Como resultado de su metabolismo los estreptococos be

tahemolíticos del grupo A producen toxinas y enzimas extracelulares que refuerzan su poder patógeno, algunas de las cuales son antigénicas y provocan en el organismo infectado la formación de anticuerpos específicos y por lo tanto son de valor diagnóstico. En la tabla I se muestran algunas de las sustancias producidas por el estreptococo y en su caso el anticuerpo correspondiente. (11, 28)

TOXINA O ENZIMA	ANTICUERPO
ACIDO HIALURONICO	SIN PODER ANTIGENICO
ALFAHEMOLISINA	
DESOXIRRIBONUCLEASAS	ANTIESTREPTODORNASA
ESTREPTOQUINASA	ANTIESTREPTOQUINASA
ESTREPTOLISINA O	ANTIESTREPTOLISINA O
ESTREPTOLISINA S	SIN PODER ANTIGENICO
HIALURONIDASA	ANTIHIALURONIDASA
LEUCOCIDINA	ANTILEUCOCIDINA
NICOTINAMIDA-ADENINA-DINUCLEOTIDASA	ANTI NAD-asa
RIBONUCLEASA	
TOXINA ERITROGENICA	ANTITOXINA ERITROGENICA

TABLA I - Toxinas y enzimas estreptococcicas más importantes y su correspondiente anticuerpo.

La estreptoquinasa puede reaccionar con una sustancia proactivadora de la sangre normal que forma un activador, que a su vez convierte el precursor inactivo plasminógeno del plasma en la enzima fibrinolítica activa plasmina, también llamada fibrinolisisina. Es por esto que a veces se utiliza como agente terapéutico en enfermedades tromboembólicas.

La estreptolisina O es una hemolisina oxígeno lábil - que se reactiva en una atmósfera microaerofílica o anaerobia - al reducirse, es antigénica y tiene como sustratos a los eritrocitos y a los leucocitos. Es de gran valor en el diagnóstico de laboratorio.

La estreptolisina S, hemolisina soluble en suero, es - hapténica y oxígeno estable, es la causa de las zonas de hemólisis que circundan las colonias de estreptococos betahemolíticos en placas de A. sangre. Puede causar la artritis de la - fiebre reumática desintegrando la membrana lisosómica de los - leucocitos polimorfonucleares que infiltran la articulación lo que conduce al aumento de la inflamación.

La hialuronidasa desdobla el ácido hialurónico de la - sustancia fundamental y ayuda a la propagación de los microorganismos a través de los tejidos infectados. La antihialuronidasa es muy útil en el diagnóstico de la infección aguda.

La toxina eritrogénica producida por cepas lisogénicas, es la causa de la manifestación clínica que ha dado nombre a la escarlatina, el exantema cutáneo. En la clínica se utiliza esta toxina para hacer la reacción de Dick que cuando es positiva indica que el individuo es susceptible a la escarlatina ya que no contiene anticuerpos antitoxina en la sangre circulante.

La desoxirribonucleasa (Estreptodornasa) despolimeriza la desoxirribonucleo proteína y el desoxirribonucleótido. La antiestreptodornasa permanece elevada por mayor tiempo que otros anticuerpos y es muy útil en el diagnóstico de la corea. (11, 28, 30, 31).

1.2.4. Significado Clínico

Aparte de las infecciones en tracto respiratorio, los estreptococos beta hemolíticos del grupo A son aislados de lesiones piodérmicas, heridas infectadas, y en la sangre de pacientes con erisipela, fiebre puerperal, celulitis y septicemia. Las enfermedades no supurativas tales como la fiebre reumática y la glomerulonefritis aguda son secuelas de faringitis en especial la primera ya que la segunda también puede seguir después del impétigo estreptocócico. La meningitis, sepsis neonatal y la vaginitis pueden ser causadas por estreptococos beta hemolíticos del grupo A y grupo B de aquí la importancia -

de un buen diagnóstico de laboratorio y un adecuado tratamiento. (27, 42)

1.2.5. Aislamiento.

Este microorganismo se aísla de nasofaringe, faringe, pus, expectoración, líquido cefalorraquídeo, lesiones de piel, exudados, orina, sangre y algunas veces de leche. Como mencionamos anteriormente, este microorganismo es muy exigente en cuanto a requerimientos nutricionales se refiere, por lo que es necesario usar medios enriquecidos. Para el primoaislamiento se recomienda utilizar un caldo enriquecido en el cual se coloque el hisopo con la muestra y se incuba a 37°C por un espacio mínimo de 2 horas y un máximo de 4 horas. Después de esto se quita el medio en exceso del hisopo y se siembra en una placa de agar sangre de carnero al 5%, se estria la caja con un asa bacteriológica y con la misma se hacen picaduras en el medio en un ángulo aproximado de 45° para poner de manifiesto la hemolisis O. También pueden ser cultivados, depositando el inóculo directamente en la placa de agar sangre de carnero 5%, inmediatamente después de su obtención.

Las cajas de agar se incuban a 37°C por 18 a 24 horas al cabo de las cuales se pueden ver las colonias características beta hemolíticas o un halo beta hemolítico en las picaduras. (11, 27, 28)

1.2.6. Identificación.

Después de observar la morfología colonial se pueden hacer pruebas basadas en su fisiología, su sensibilidad y/o sus características antigénicas.

Con base en su fisiología se puede realizar la prueba de la catalasa (-), hidrólisis del hipurato (-), hidrólisis de bilis-esculina (-) y el efecto C.A.M.P. (-). (11, 28)

De acuerdo a su sensibilidad la prueba más importantes es la de la bacitracina, en la cual se usan discos que contienen 0.02 o 0.04 unidades del antibiótico por disco, la prueba es confiable en un 70 - 90% de los casos. (32)

Los estreptococos al igual que otros microorganismos se pueden clasificar más precisamente por sus características antigénicas. El carbohidrato específico de grupo puede ser obtenido por varios métodos: calor-ácido, calor-formamida, autoclave y el método enzimático. El grupo A se puede subdividir en grupos más pequeños o tipos en función de dos proteínas antigénicas: la M y la T. La M se puede identificar por una reacción de precipitación en capilar y la proteína T por aglutinación en placa.

Además de las pruebas inmunológicas anteriores también

se puede realizar el método de anticuerpos fluorescentes o la coaglutinación en placa para la identificación del grupo al cual pertenece un estreptococo aislado. (28, 38)

1.2.7. Evaluación de los Cultivos.

La información que debe reportar el laboratorio de un cultivo positivo es:

1) La identidad del microorganismo aislado o su probable identidad.

2) El número relativo de microorganismos presentes.

La estimación del número de microorganismos presentes puede realizarse por cruces de la siguiente manera:

- + = Menos o igual a 10 colonias por placa.
- ++ = De 10 a 50 colonias por placa.
- +++ = Más de 50 colonias.
- ++++ = Cultivo puro o predominancia del m.o. aislado.

Si la única prueba que se realiza en un laboratorio es la sensibilidad a bacitracina, se debe reportar como "Estreptococo betahemolítico presuntivo del grupo A por bacitracina", - en caso de que sea sensible al antibiótico ó "Estreptococo be-

tahemolítico, no del grupo A por bacitracina". (28)

1.2.8. Sensibilidad y Resistencia

Todos los antisépticos ordinarios los matan en 15 min. a las concentraciones habituales. Son susceptibles a sulfonamidas, tetraciclina, eritromicina, lincomicina aunque se han -- aislado cepas resistentes a estos antimicroorganismos. Pero -- todos los tipos del grupo A son sensibles a penicilina. (11, - 28)

1.3. ANTIMICROBIANOS

Los antimicrobianos son medicamentos empleados en el -- tratamiento de enfermedades infecciosas, se han dividido en -- antibióticos y quimioterápicos sin que ésta división tenga al -- gún significado terapéutico. (11)

Los antibióticos son sustancias químicas derivadas de -- microorganismos vivos (bacterias, hongos, actinomicetos), los -- cuales actúan sobre otros microorganismos. (17)

Por quimioterápico se entiende toda sustancia obtenida -- por síntesis que actúan sobre los microorganismos, sin dañar -- los tejidos del huésped. El término puede ampliarse a todas -- las sustancias que actúan contra todo tipo de parásitos, sean --

o no microscópicos, sin que habitualmente causen un daño importante.

Entre los dos grupos anteriores de antimicrobianos, cabe uno intermedio, que es el de los llamados antibióticos semi sintéticos, en los cuales se utiliza el grupo químico fundamental del antibiótico natural y se modifica artificialmente los grupos laterales en el laboratorio. (11)

1.3.1. Mecanismo de Acción de los Antimicrobianos.

Se han logrado esclarecer los mecanismos a través de los cuales ejercen su actividad la mayoría de agentes antimicrobianos, siendo cinco los mejor conocidos: (9)

- 1) Inhibición de la síntesis de la pared celular.
- 2) Alteraciones de la membrana celular.
- 3) Alteración de la síntesis proteica.
- 4) Interferencia con metabolitos esenciales.
- 5) Alteraciones del metabolismo del ácido nucleico.

1) Inhibición de la síntesis de la pared celular: Generalmente las bacterias están rodeadas por una pared rígida que las protege de las condiciones osmóticas ambientales adversas. Cuando por algún mecanismo enzimático o de otra naturaleza, se impide la formación íntegra de la pared, la bacteria-

queda desprotegida frente a un medio hipotónico en relación con su presión osmótica interna y la bacteria se lisa. (17)

Ejemplo: Cefalosporinas y penicilinas; la región activa de estos antibioticos está formada por un anillo tiazolidínico unido a un anillo betalactámico, a los que se les unen cadenas laterales. Actúan en la etapa final de la síntesis de la pared celular en el entrecruzamiento de las cadenas lineales de mucopéptido. Esta es la llamada reacción de transpeptidación, donde se forma un enlace peptídico. Además de la transpeptidasa, las bacterias sensibles contienen otras enzimas susceptibles de ser inhibidas por los betalactámicos. (9)

2) Alteración de la membrana celular; Estos antibióticos actúan modificando la estructura de la membrana celular y alterando su función como barrera osmótica, permitiendo así el paso de sustancias en ambos sentidos que normalmente no pasarían. Este grupo de antibióticos son muy tóxicos y pocos tienen aplicación clínica. (11)

Ejemplo: Polimixinas; comprende a las polimixinas A a la E. De ellas, solamente la polimixina B y E tienen uso clínico. Las polimixinas se unen a la superficie externa de la membrana citoplasmática, alterando su estructura y propiedades osmóticas, acción que se realiza posiblemente por desplazamiento del magnesio y del calcio, llevando a un desarreglo de-

los componentes fosfolipídicos y lipopolisacaridos. (9)

3) Alteración de la síntesis proteica: Como se sabe, la síntesis de proteínas es la consecuencia de dos fenómenos básicos: la transcripción y la traducción.

Transcripción- consiste en la síntesis de RNA mensajero (RNA_m), tomando como molde al DNA. Se efectúa por la acción de la polimerasa de RNA. Si se impide la acción de esta enzima o se altera la estructura del DNA molde, se impide la formación de RNA_m íntegro.

Traducción- el mensaje del RNA_m es leído en los ribosomas, de tal manera que la secuencia de aminoácidos que constituye una determinada proteína da la estructura tridimensional de la misma. Algunos antimicrobianos se unen al ribosoma en cualquiera de sus subunidades (30S o 50S) lo que puede causar lecturas genéticas equivocadas, dando como resultado una proteína con defectos letales para la célula.

Ejemplo: A- Inhibidores de la transcripción: la rifampicina interactúa con una de las subunidades de la polimerasa de RNA impidiendo que efectúe su acción catalítica. Tal inhibición sólo tiene efecto en el inicio de la síntesis de RNA_m y no actúa en el alargamiento. La rifampicina sólo es activa contra la polimerasa de las células procariotes.

B- Inhibidores de la traducción: los aminoglucósidos - en las cepas sensibles, se unen a todos los ribosomas que participan activamente en la síntesis de proteínas lo que causa - una traducción errónea por lectura equivocada del mensaje del-RNA_m. (9)

4) Interferencia con metabolitos esenciales: Las enzimas microbianas pueden ser inhibidas por sustancias que posean una estructura similar a la del sustrato natural, combinándose de tal manera que se impida la reacción catalítica normal. -- Los inhibidores de este tipo pueden ser análogos de diversos - factores de crecimiento como vitaminas y aminoácidos. Por desgracia no hay muchos ejemplos en que pueda lograrse una inhibición altamente selectiva.

Ejemplo: Sulfonamidas; son análogos estructurales del ácido para-aminobenzoico (PABA), el cual representa un compuesto precursor del ácido fólico. La forma biológicamente activa del ácido fólico es el ácido tetrahidrofólico. Las sulfonamidas interfieren en la síntesis del PABA, teniendo actividad -- por lo tanto, en organismos que sintetizan ác. fólico. (9)

5) Alteraciones del metabolismo del ácido nucleico:- Se conocen varios antimicrobianos que actúan afectando la estructura y funcionalidad del ADN; sin embargo, sólo unos cuantos tienen una toxicidad aceptable para ser considerados en la

práctica clínica. En realidad, cualquier sustancia que altere la doble hélice en el ADN es potencialmente teratogénica y capaz de afectar profundamente todas las fases del metabolismo celular.

Ejemplo: Ac. Nalidíxico; su acción, la cual es reversible, se ejerce sobre un componente que es necesario para que actúe una enzima denominada "girasa" del DNA, la cual interviene en el "desenrollamiento de ésta molécula durante el proceso de replicación. Otro mecanismo de acción es el bloqueo de la enzima de elongación del DNA. (9)

De los mencionados mecanismos de acción se distinguen antimicrobianos bactericidas y bacteriostáticos.

Bactericida es un fármaco que actúa cuando el microorganismo está en actividad de reproducción o síntesis, actuando a nivel pared, membrana y en sitios tardíos de la síntesis de las proteínas.

Bacteriostático, es un fármaco cuya acción conduce a la detención de la actividad de la reproducción y síntesis, actuando sobre la síntesis temprana de proteínas. (42)

De aquí que un bacteriostático inhiba a un bactericida, ya que el primero impide que el microorganismo este en ac-

tividad de síntesis, razón por la cual no actuará el segundo.

También es importante mencionar que dos bacteriostáticos o dos bactericidas se potencializan siempre y cuando actúen a diferente nivel. (9)

1.3.2. Uso de Antimicrobianos.

En el presente apartado trataremos en forma de incisos las normas y consideraciones generales del uso de antimicrobianos.

1) Antes del uso de antimicrobianos se debe tener en cuenta los signos y síntomas clínicos.

2) Tomar en cuenta las condiciones particulares de cada paciente: edad, factores genéticos, anomalías metabólicas, alergia, alteraciones del sistema nervioso central, función hepática, renal, digestiva, respiratoria, estado inmunológico y nutricional.

3) Con base en lo anterior elegir el antimicrobiano apropiado, tomando en cuenta la dosis, vía e intervalo de administración, duración del tratamiento, fenómenos colaterales y toxicidad.

4) Evitar siempre que sea posible la asociación de antimicrobianos, teniendo en cuenta, que la asociación de un bactericida con un bacteriostático se antagonizan, mientras que los bactericidas se potencializan.

5) Si el paciente no responde a un tratamiento después de 5-7 días, suspender la medicación y revalorar el problema. (9, 17)

1.3.3. Profilaxia con Antimicrobianos.

Con base en el criterio de que si un medicamento es bueno para "destruir" a los microbios que han invadido un organismo, también debe servir para impedir la invasión del mismo, se han empleado los antimicrobianos para prevenir infecciones en diversas situaciones como las siguientes:

- 1) Recién nacido de madre con fiebre y amnionitis.
- 2) Contactos con meningococemia
- 3) Pacientes con fiebre reumática que deben ser sometidos a estudios periódicos.
- 4) Pacientes con cardiopatía reumática.
- 5) Reducción de flora bacteriana colónica.
- 6) Cuidado oftálmico del recién nacido.
- 7) Bronquiectasia.
- 8) Picaduras de animales cerca de la cara.

- 9) Pre-quirúrgicas en tuberculosis pulmonar.
- 10) Prevención del paludismo de viajeros a zonas endémicas.
- 11) Quimioprofilaxis tuberculosa.
- 12) Pacientes con infección urinaria recurrente en quienes no ha sido demostrada uropatía obstructiva
- 13) Cirugía mayor.

De las situaciones anteriores se distinguen los siguientes fines:

A- Proteger a personas sanas contra la invasión de microorganismos a los que van a estar, están o estuvieron expuestas.

B- Disminuir el peligro de infección en sujetos con padecimientos crónicos.

C- Inhibir la propagación de una infección localizada, o prevenir la infección en general, en enfermos que sufrieron un traumatismo accidental o quirúrgico. (9, 11, 17)

1.3.4. Fenómenos Colaterales.

Los principales efectos indeseables de los antimicrobianos son: hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, nefrolitiasis, --

anemia hemolítica, anemia aplástica, trombocitopenia, agranulocitosis, sensibilización alérgica, neurotoxicidad y otros efectos tóxicos. Hay que señalar el efecto que se tiene cuando se administra un bactericida potente cuando el microorganismo causal se encuentra en abundancia dentro del huésped; la destrucción masiva del microorganismo libera bruscamente gran cantidad de endotoxinas y esto puede ser mortal. Un ejemplo es en algunos tratamientos de la sífilis con penicilina.

Otro efecto desfavorable, desde el punto de vista inmunológico, es cuando se tratan las infecciones muy al principio, lo que no permite una buena respuesta inmunológica del huésped, dando por resultado, que enfermedades que dejadas a su evolución natural dan una inmunidad de por vida y con el tratamiento precoz específico es de más corta duración. Esta consideración no se debe tomar en cuenta para tratar enfermedades importantes o de consecuencias graves.

Existen antimicrobianos que administrados al mismo tiempo que la ingestión alcohólica, provocan el efecto antabus por la persistencia de productos intermediarios tóxicos que llegan a poner en peligro la vida del enfermo. p. ej. el metronidazol, isoniacida y la griseofulvina. (9, 17)

Por último la perturbación del equilibrio ecológico de las floras que propicia la superinfección por gérmenes pató

genos oportunistas, importante principalmente en individuos -- con padecimientos crónicos graves, así como en el medio hospitalario. Esto también nos va a llevar a la selección de poblaciones microbianas resistentes. (33)

1.3.5. Farmacocinetica General.

Un aspecto de suma importancia para cualquier fármaco o medicamento, es alcanzar niveles sanguíneos y tisulares que sean al mismo tiempo eficaces e inocuos. Para determinar la dosis e intervalos de administración de un fármaco es necesario conocer sus características metabólicas, absorción, distribución, excreción, así como sus fenómenos colaterales.

ABSORCION- la absorción de un fármaco va a estar determinada por las características químicas del mismo y la vía de administración.

Las principales vías de administración de antimicrobianos son la vía oral y la parenteral. La vía oral es la preferida para pacientes ambulatorios ya que facilita seguir las indicaciones sin tantas complicaciones, mientras que la vía parenteral se utiliza en pacientes severamente graves en quienes se desea obtener rápidamente niveles máximos.

No todos los fármacos administrados por vía oral tie-

nen la misma absorción. La concentración alcanzada, de cualquier forma, está directamente relacionada con la velocidad del binomio absorción-excreción. Si la velocidad de absorción es muy buena (p.ej. Cloranfenicol), los niveles séricos aumentan rápidamente y permanecen más o menos tiempo, dependiendo de la cantidad excretada. Cuando la excreción es mayor (p.ej. Penicilinas), los niveles séricos disminuyen rápidamente y sólo se sostendrán si se aumenta la dosis y se disminuye el intervalo de administración.

La absorción subsecuente a la administración oral depende de la estabilidad en un medio ácido, bien sea del producto íntegro o de sus fracciones.

La presencia de alimento afecta la velocidad de absorción, retarda el vaciamiento y permite la degradación que facilitará la absorción o inactivará al fármaco.

La absorción por vía parenteral permite obtener mejor biodisponibilidad en el mínimo de tiempo; sin embargo, tanto la administración intravenosa y la intramuscular, tienen limitaciones en su indicación precisa. (9, 17)

DISTRIBUCION- Para este fin el antimicrobiano se une a las proteínas plasmáticas principalmente la albúmina. Esta unión varía para cada fármaco.

La porción libre del fármaco puede difundir a los tejidos, ser transformada en el hígado o eliminada por el riñón. La porción unida a proteína permanece en circulación mayor tiempo que el libre, a su vez difunde lentamente hacia la zona de inflamación, sitios en donde se libera de su unión y alcanza niveles inhibitorios "in situ".

Son pocos los territorios en donde hay características especiales que modifican la difusión de fármacos:

1) Sistema nervioso- Aquí se encuentra la llamada "barrera hematoencefálica" a nivel de plexos coroideos y de encéfalo, que "regula" el paso de varias sustancias, entre ellas los fármacos y de ellos los antimicrobianos. En el encéfalo se requiere que los fármacos para difundir sean liposolubles, de bajo peso molecular y de baja ionización o agregación.

En condiciones normales existen antibacterianos que no difunden al LCR p. ej. los macrolidos (eritromicina), cefalosporinas y los aminoglucósidos (gentamicina). Pero también existen los que sí difunden normalmente, como son el cloranfenicol y la sulfadiazina.

Durante la etapa activa de la infección meningoencefálica, en donde se coincide con inflamación de las leptomeninges, la barrera hematoencefálica se hace más "complaciente" y

permite en esas condiciones difusión de fármacos como las ampicilinas, cefalosporinas y penicilina natural.

2) Barrera placentaria- Los fármacos más hidrosolubles y menos ligados a proteínas, alcanzan concentraciones casi iguales en circulación materna y en circulación fetal. p. ej. la penicilina natural, ampicilinas y cefalosporinas. Estos productos pueden ser inocuos (penicilina natural), o bien, tener alto riesgo como las tetraciclinas, cloranfencol y amino glucósidos.

Existen fármacos que no pasan la barrera placentaria- como son algunos tipos de cefalosporinas tipo cefaloridina y la polimixina tipo colistin.

3) Difusión a otros órganos- Los antimicrobianos alcanzan una difusión variable a los líquidos intersticiales de prácticamente todos los tejidos en condiciones normales, aumentando en áreas de inflamación y líquidos de colección; derrames pleurales, pericardio o ascitis. (9, 17)

ELIMINACION- Como la mayoría de los fármacos, los antimicrobianos son eliminados principalmente por la vía renal, en forma activa y/o inactiva o metabolizada. La presencia de enfermedad renal afecta los niveles séricos circulantes; en condiciones normales es de vital importancia tanto en la selec-

ción del fármaco como en la determinación de la dosis e intervalo de administración. Muchos antimicrobianos de uso corriente en clínica tienen un definido efecto nefrotóxico, sin embargo, ocupan un lugar importante en la terapéutica de pacientes con padecimientos sistémicos graves. Por fortuna el daño es reversible si se suspende la administración del antimicrobiano. (9, 17, 27)

1.3.6. Sensibilidad a Antimicrobianos.

En este apartado trataremos de manera breve las principales pruebas de sensibilidad o susceptibilidad a antimicrobianos "in vitro".

Las técnicas de más uso y que son reproducibles, son las siguientes:

- a) Técnica de dilución en agar o medio líquido.
- b) Técnica de difusión en agar o antibiograma.
- c) Técnicas automatizadas.

Cada una de ellas tiene sus ventajas y desventajas -- por lo que el procedimiento a usar se elige de acuerdo a las necesidades que se tengan y a los recursos con que se cuente en el laboratorio. (35)

a) Técnica de dilución: Estas técnicas son cuantitativas y dan la concentración en microgramos del fármaco necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano particular. El antimicrobiano se diluye progresivamente en un medio de cultivo líquido (caldo) o sólido (agar).

Cuando se emplea medio líquido, después de realizar las diluciones del antimicrobiano, se inocula la bacteria de prueba. El inóculo bacteriano debe ser puro y cada tubo debe recibir de 10^5 a 10^6 BACTERIAS/ml, se incuban a $35^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ por un tiempo mínimo de 18 hrs y óptimo de 24 hrs. se observa la concentración más baja que inhibió el crecimiento. Esta será la concentración mínima inhibitoria (CMI). Si se desea saber la concentración bactericida mínima (CBM), se puede obtener -- subcultivando a un medio sólido libre de antimicrobianos el -- contenido de los tubos en que no se observó crecimiento y después de un período adicional de incubación, la CBM será la dilución más baja que haya inhibido el desarrollo de colonias. -
(28)

En la técnica de dilución en agar el organismo se -- siembra en forma de gotas con 3 a 6×10^5 bacterias/gota sobre la superficie del agar el cual contiene una concentración determinada del antibiótico. Se incuba a $35^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ por espacio de 18 a 24 hrs. y se utiliza el mismo criterio que para la técnica anterior. (35)

En esta técnica no se puede obtener la CBM, pero es la más empleada por la posibilidad de probar hasta 30 cepas -- por caja y además de que es factible la detección de contaminación bacteriana. Para los microorganismos exigentes, es necesario enriquecer el medio, p. ej. con sangre para los estreptococos o con sangre "chocolatizada" para las pruebas de Haemophilus y Neisseria gonorrhoeae. (28)

b) Técnica de difusión en agar o antibiograma: Es -- la técnica más fácil y por lo tanto la más empleada en los laboratorios de microbiología clínica. Esta técnica es, en esencia, el resultado de la interacción de tres elementos: el antimicrobiano depositado en un reservorio (generalmente un disco de papel filtro); un microorganismo el cual será o no inhibido por el antimicrobiano y un medio sólido (agar) que servirá como apoyo al crecimiento de la bacteria y la difusión del antibiótico. Las variables que pueden afectar al sistema son: la temperatura la concentración de bióxido de carbono y el -- tiempo de incubación.

Se siembra masivamente el microorganismo de prueba en la placa de agar y luego se coloca el disco que contiene el -- antimicrobiano en el medio inoculado. A partir de este momento se establece una competencia entre el antimicrobiano que difunde a través del medio y el microorganismo que comienza a -- multiplicarse. Si el microorganismo es sensible, alrededor --

del disco habrá un halo de inhibición hasta un límite dado -- por la concentración alcanzada por el antimicrobiano en ese -- punto.

El diámetro de la zona de inhibición tiene relación - inversamente lineal con la CMI obtenida por el método de dilución en agar. A mayor zona de inhibición mayor será la susceptibilidad del microorganismo y, en consecuencia, la concentración necesaria del antimicrobiano para inhibir su crecimiento será menor. Aunque este es un estudio cualitativo, puede proporcionar información cuantitativa extrapolando a partir del diámetro de inhibición la concentración mínima inhibitoria - - (CMI) en gráficas de análisis de regresión previamente elaboradas. Así, el diámetro de la zona de inhibición tendrá su correspondiente CMI y su clasificación como susceptible o resistente dependerá de la relación existente entre la CMI y la concentración del antimicrobiano alcanzada en sangre según sea su particular farmacocinética, estos datos se encuentran ya tabulados (Anexo B). (11, 28, 35)

Existe otro método que emplea la difusión como fundamento; en el se usan cilindros calibrados de diversos materiales (vidrio, porcelana, metal, etc.) en los cuales se coloca la dilución de concentración conocida del antimicrobiano. El microorganismo a probar se inocula previamente en el agar fundido a temperatura aproximada de 48°C y posteriormente se vier

te en la caja de Petri; después de que el agar a solidificado, los cilindros son colocados sobre él, se incuban las placas de 18-24 hrs., se observan y miden los halos de inhibición. Una de las principales aplicaciones de este método es en la industria farmacéutica para medir la potencia de antimicrobianos -- por comparación con estándares de potencia conocida, midiendo los halos de inhibición. (25)

c) Métodos automatizados: Como en todas las áreas del laboratorio de análisis clínico, la automatización también ha invadido el análisis bacteriológico y se cuenta con aparatos que pueden identificar un microorganismo y realizar su sensibilidad a antibióticos en menos de 12 hrs. El costo es muy alto en un principio pero debido a la funcionalidad que tiene se va amortizando y suele ser bastante costeable. Proporciona la CMI en mucho menos tiempo, es muy reproducible y evita los errores de las técnicas manuales, por lo que no sería raro que empiece a desplazar a los métodos usados tradicionalmente. -- (35)

1.4. RESISTENCIA BACTERIANA

Las causas por las que una bacteria es resistente a determinado antimicrobiano pueden ser:

- A) Resistencia genética.
- B) Mutación espontánea o inducida.
- C) Transducción.
- D) Transformación.
- E) Conjugación.

A) En la resistencia genética, un microorganismo es originalmente resistente sin que se sepa la causa.

B) La mutación es un fenómeno normal y espontáneo de las bacterias, pero también puede ser inducida por agentes externos; sean físicos, como las radiaciones, o químicos, como los agentes alquilantes. (24)

Sin embargo, la administración de un fármaco y la presencia de mutantes resistentes, representa la multiplicación de las mutantes, las cuales ya estaban presentes y no se debieron a una influencia mutagénica del antimicrobiano. (38, 43)

C) La transducción, es un proceso mediante el cual una bacteria se hace resistente con la intervención de bacteriófagos, los cuales transfieren la resistencia de una bacteria resistente a otra sensible. (9, 11)

D) En la transformación, la célula bacteriana incorpora de su medio ambiente uno o más genes formados por otra --

bacteria. (9, 40)

E) La conjugación es uno de los más importantes mecanismos para adquirir resistencia antimicrobiana en los microorganismos gramnegativos. Las bacterias conjugan para pasar de una a otra, factores de resistencia múltiple o simple. Se necesita del contacto de célula-célula, para el desarrollo de este proceso. Los factores R son generalmente citoplasmáticos e independientes del cromosoma de la bacteria huésped. El factor de transferencia de la resistencia (FTR), es un episoma -- que pasa por conjugación de una bacteria donante a una receptora, a fin de transferirle resistencia antimicrobiana. (11, 28, 43)

Todo lo anterior se va a manifestar en forma de los denominados mecanismos moleculares de resistencia:

a) Alteración de la molécula blanco: consiste en la modificación del receptor para determinado antimicrobiano al cual ya no puede realizar su acción.

b) Alteración en el transporte del antimicrobiano: - muchos de los antimicrobianos actúan a nivel intracitoplasmático y para ello requiere de un transporte, si este último está alterado o no existe, el antimicrobiano no podrá ejercer su acción ya que no puede llegar al sitio de acción.

c) Producción de enzimas de novo: la producción de - enzimas que inactivan al antimicrobiano ya es común, estas realizan su acción rompiendo o agregando grupos al antimicrobiano.

d) Utilización de vía metabólica alterna: Aquí, la - bacteria reemplaza una vía metabólica en la cual no interfiera el antimicrobiano.

e) Reducción de utilización metabólica: En la cual - el microorganismo deja de utilizar la vía metabólica en la que interfiere el antimicrobiano al convertirse en auxótrofo.

f) Tolerancia: La bacteria incluye al antimicrobiano en su metabolismo. La tolerancia se logra en casi todas las - bacterias cuando se cultivan en medios con concentraciones del antimicrobiano a niveles muy por debajo del nivel inhibitorio. La tolerancia a veces es reversible cuando se cultiva a la bacteria en un medio libre del antimicrobiano. (11, 17, 28, 38)

2 FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA

Los antimicrobianos en medicina se utilizan con tanta libertad y en tan variadas situaciones clínicas, no siempre justificadas, que es necesario racionalizar con criterio la anarquía existente en su uso. Un hecho fundamental es el abuso que se hace de los antimicrobianos, sobre todo para procesos que no tienen una base infecciosa. Lo anterior ha propiciado alteración en el equilibrio de floras, aparición de cepas resistentes, selección de clonas bacterianas que emergen como "nuevos" gérmenes patógenos, muchos de los cuales fueron con anterioridad considerados como parte de la flora normal y que en la actualidad representan el mayor problema clínico. (9)

Los estreptococos del grupo A betahemolítico, son bacterias comunmente asociadas con infecciones en el hombre. A pesar de que éstas se pueden minimizar por el uso de antibiótico el interés de la ciencia médica en estos microorganismos radica principalmente en dos secuelas de una infección por estreptococo del grupo A: Fiebre reumática aguda y la glomerulonefritis aguda (31).

A principios de la década pasada se pensaba que los agentes etiológicos tales como el Streptococcus pneumoniae,

los gonococos y el estreptococo betahemolítico del grupo "A", tenía una susceptibilidad inalterable a los antibióticos betalactámicos como la penicilina.

Pero en 1977, en Sudáfrica fueron aisladas cepas de Streptococcus pneumoniae resistentes a betalactámicos y de otros antibióticos, de niños con meningitis, neumonía y bacteremia o neumonía y empiema (2,26). Estos organismos al parecer no producen betalactamasas (37) más bien tienen cambios bioquímicos en la membrana celular que no permiten la unión de la penicilina a la proteína receptora (20, 44).

Por otra parte, de 1979 a 1981 los países con un buen sistema de vigilancia sanitaria, observaron un aumento de dos a seis veces en el número de aislamientos de cepas de N.gonorrhoeae resistente a la penicilina (34), siendo éste el antibiótico de elección para las gonococcias.

Por lo que respecta al estreptococo betahemolítico del grupo A, en la década de los sesentas era difícil encontrar una cepa resistente a antibióticos no betalactámicos. Pero a principios de la década de los setentas se incrementó la frecuencia de cepas obtenidas de infecciones, resistentes a sulfonamidas, tetraciclina, cloranfenicol y eritromicina (15, 23). Por lo que se realizaron estudios de los mecanismos para la transferencia de la resistencia de célula a célula (22-38).

También se puede decir que éstos estreptococos son "naturalmente" resistentes a los aminoglucósidos (1) por lo que casi no se usan para su terapia.

Todo lo anterior, aunado a que el uso indiscriminado e irracional de antibióticos provoca la selección de cepas bacterianas resistentes a los mismos (5,6,33), nos hace pensar que en la zona de Cd Netzahualcoyotl puede existir alguna cepa de Streptococcus menos sensible a la penicilina, y a otros antibióticos comunmente empleados en el tratamiento de infecciones por este microorganismo. Además de que ya se tiene referencia de que se observa una disminución en la sensibilidad -- del Streptococcus pyogenes (principalmente del grupo A beta-hemolítico), a la penicilina (7) algunos investigadores se han interesado en el probable mecanismo de resistencia del estreptococo beta-hemolítico del grupo A, induciendo una mutación con la cual se obtuvieron cepas penicilinaresistentes y penicilinotolerantes (18).

Por otra parte, es importante determinar un "patrón" de sensibilidad a antibióticos del Streptococcus pyogenes para el mejor tratamiento de persona alérgicas a las penicilinas, que tengan una infección con éste patógeno ya que sabemos que la sensibilidad a antibióticos de una misma especie bacteriana cambia de un país a otro incluso dentro del mismo país de una ciudad a otra como lo muestra la tabla II donde se tabulan las-

concentraciones mínima inhibitorias (CMI) reportadas en tres - trabajos realizados en ciudades diferentes de los Estados Unidos (3,7,18).

TABLA II- Concentraciones Mínimas Inhibitorias de tres trabajos realizados en los Estados Unidos.

ANTIBIOTICO	C.M.I. (3)* (ug/ml)	C.M.I. (7)* (ug/ml)	C.M.I. (18)* (ug/ml)
CEFALOTINA	0.06-0.50	0.05-0.50	NR
CEFOTAXIMA	0.01-0.25	NR	0.015
CLINDAMICINA	0.025-0.5	0.025-0.5	NR
CLORANFENICOL	1.0-4.0	1.0-5.0	NR
ERITROMICINA	0.03-0.5	0.01-5.0	0.015
MOXALACTAMA	NR	0.05-5.0	NR
OXACILINA	NR	0.25-1.0	0.030
PENICILINA	0.01-0.12	0.0025-0.05	0.006
RIFAMPICINA	NR	0.01-0.50	0.060
TETRACICLINA	0.12-32.0	0.25-100.0	0.120
VANCOMICINA	0.25-0.5	0.5-2.5	0.500

Notaciones:

C.M.I.=Concentración Mínima Inhibitoria

* El número corresponde al de la bibliografía.

NR= No reportado

En el último trabajo (18) se tabulan promedios mientras que en los otros dos se encontraron reportados los rangos de C.M.I.

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Streptococcus pyogenes constituye la causa más importante de faringoamigdalitis aguda. Este microorganismo está ampliamente diseminado en el país existiendo de manera endémica (42). Lo más importante es que la fiebre reumática se debe exclusivamente a la faringoamigdalitis estreptocócica - del grupo A, y constituye una evidencia de este antecedente. - La existencia de portadores asintomáticos hace que se disemine fácilmente provocando sintomatología en personas sanas - - (43). Estas tratan de aliviarse principalmente de dos formas: 1) automedicándose con base en su conocimiento empírico, lo -- cual es posible debido a que los medicamentos no tienen un -- buen control en nuestro país; y 2) acudiendo al médico el - - cual dará un tratamiento a base de penicilina que el paciente puede no seguir del todo ya que una buena parte de las personas tratadas abandonan la antibioterapia por sentirse mejor, - ignorando que la mejoría sintomática ocurre en unos cuantos - días, independientemente de que se prescriba o no una terapia antimicrobiana pero la infección continua. (43). También -- puede ocurrir que el antibiótico no sea totalmente efectivo - por cualquiera de las siguientes causas:

A) se ha demostrado en numerosos casos que en un tra tamiento con penicilina benzatínica los niveles plasmáticos -

alcanzados son inferiores a la concentración mínima inhibitoria del Streptococcus pyogenes (40).

B) puede producirse reinfección, cuando el tratamiento rápido impide una respuesta inmune adecuada contra los estreptococos (producción insuficiente de anticuerpos), dejando al paciente en condición susceptible al patógeno durante la convalecencia.

C) la producción "in vivo" de variaciones bacterianas o "formas L" las cuales son resistentes a la penicilina (12). Por otra parte se han encontrado variantes L que continúan produciendo proteína M de tipo específica (11).

D) la existencia de flora sinérgica productora de betalactamasas que inactivan las concentraciones locales del antibiótico entre estos microorganismos podemos contar a Staphylococcus aureus (4) y especies del género Bacteroides. Reilly y colaboradores encontraron presentes anaerobios formadores de absceso y encapsulados en cantidades estadísticamente significativo en niños con amigdalitis aguda, comparativamente con niños sin infección. También encontramos que el Bacteroides melaninogenicus y el Bacteroides oralis, productores de betalactamasa, además del Staphylococcus aureus, estaban presentes en aproximadamente 75% del núcleo de las amígdalas de niños con amigdalitis recurrentes y amigdalectomías --

subsiguientes (8,42).

E) las criptas amigdalinas cicatrizadas, pueden brindar refugio para los estreptococos incluso durante el tratamiento y de esta manera al concluir el tratamiento puede emerger como una reincidencia (42).

F) La resistencia al antimicrobiano, que aunque universalmente se maneja al Streptococcus pyogenes como totalmente sensible a penicilina y otros betalactámicos, hay que recordar que existen múltiples maneras de que una bacteria se haga resistente y de aquí nuestro interés en este apartado -- además se han encontrado resistentes de estreptococos a otros antimicrobianos no betalactámicos (Eritromicina, Tetraciclina, Lincomicina) y una disminución en su sensibilidad a penicilina (9). Ahora bien, si se determina que el paciente es alérgico a los antibióticos betalactámicos (penicilinas), el médico puede mandar un estudio de sensibilidad a antibióticos o indicar un antibiótico de elección después de la penicilina; Eritromicina o Lincomicina (9, 43), antimicrobianos a los que puede hacerse resistente el Streptococcus pyogenes (19,23,41).

Todo lo anterior redunda en infecciones estreptocócicas de reincidencia que tienen el riesgo de dejar secuelas graves como la fiebre reumática aguda, la glomerulonefritis aguda o enfermedades supuradas complicadas como la otitis me-

día (43).

De las causas expuestas para la amigdalitis de reincidencia, las primeras han sido ampliamente estudiadas y han dado respuesta satisfactoria en algunos casos, pero la última (resistencia a antibióticos por parte del estreptococo) no ha sido muy estudiada y es a la que nos abocamos en este trabajo, ya que conociendo la sensibilidad a antibióticos de S. pyogenes en la zona periférica a ésta institución, entre ellas la correspondiente a Cd. Nezahualcoyotl, se determinará cuál es el antibiótico de elección para éste tipo de infecciones y -- con ello se dará el primer paso para tratar de erradicar al S. pyogenes de la bucofaringe evitando así las secuelas tan indeseables ya mencionadas.

4 OBJETIVOS

1) Determinar el porcentaje de portadores sanos de estreptococo betahemolítico en una población de Cd. Nezahualcoyotl.

2) Determinar la sensibilidad a antibióticos de los estreptococos betahemolíticos del grupo A.

3) Determinar la concentración mínima inhibitoria de los mismos antimicrobianos y para los mismos microorganismos.

4) Determinar el antibiótico de elección para las -- personas alérgicas a betalactámicos.

5) Tratar de demostrar que existe una disminución en la sensibilidad a antimicrobianos betalactámicos por parte de los estreptococos betahemolíticos del grupo A.

5 HIPOTESIS

Si se sabe que el uso indiscriminado de antimicrobianos provoca la selección de cepas bacterianas resistentes a los mismos y como se supone que el estreptococo betahemolítico del grupo A tiene una sensibilidad inalterable a los antibióticos betalactámicos, se encontrará un patrón de resistencia a antimicrobianos no betalactámicos y uno de sensibilidad a betalactámicos.

6 MATERIAL Y EQUIPO

MATERIAL

Abatelenguas de madera

Algodón

Asa y portaasa bacteriológica

Cajas de petri de plástico

Cajas de Petri de vidrio

Celdas para espectrofotómetro (13 x 100)

Frascos de boca ancha con tapa de rosca de 1 lt.

Gasa

Fradilla para tubos de ensaye

Hisopos estériles

Jeringas hipodérmicas desechables 10 ml

Marcador de tinta permanente

Masking tape

Matraz aforado 1000 ml

Matraz aforado 250 ml

Matraz aforado 100 ml

Matraz aforado 50 ml

Matraz de bola con fondo plano 50 ml

Matraz Erlenmeyer 1000 ml

Papel pH

Pitetas graduadas 1 ml

Pipetas graduadas 2 ml

Pipetas graduadas 5 ml
Pipetas graduadas 10 ml
Pipetas Pasteur
Pipetas serológicas 0.1 ml
Pipetas serológicas 0.2 ml
Frascos goteros 60 ml
Portaobjetos
Probeta graduada 500 ml
Regla milimétrica
Tela de alambre con asbesto
Termómetro de -10 a 200°C
Triple metálico
Tubos de ensaye 13 x 100
Tubos de ensaye 18 x 150

MATERIAL BIOLÓGICO

Cepa pura de Staphylococcus aureus betahemolítico
Cepa pura de Staphylococcus aureus ATCC 25923
Sangre de carnero estéril y desfibrinada
300-500 pacientes.

EQUIPO

Agitador mecánico para tubos de ensaye, VORTEX-GENIE
modelo K-550-G
Autoclave

Balanza analítica METER modelo H-80

Balanza granataria CHAUS, modelo Florham Park

Contador de colonias Sol-Bat, Modelo N° 432

Espectrofotómetro BAUSCH AND LOMB, modelo Espectronic
20

Incubadora MAPSA, modelo EC-334

Microscopio AMERICAN OPTICAL, modelo One-Ten

Refrigerador Mabe, modelo Space linea.

SOLUCIONES Y REACTIVOS

Solución de hidróxido de sodio 1.0 N

Solución de peróxido de hidrógeno, 30 volúmenes

Solución salina 0.85%

ANTIBIOTICOS: Discos de Bacitracina (0.04 u/ disco)

Multidiscos combinados Bioclín

Ampicilina, Cefalotina, Eritromicina, -

Gentamicina, Penicilina (sal sódica) y

tetraciclina.

COLORANTES: Cristal violeta

Lugol

Safranina

Rojo de fenol 0.5%

MEDIOS DE CULTIVO: Base de agar sangre

Agar Staph.-110

Caldo BHI

Caldo nutritivo

Caldo tioglicolato

SOLVENTES:

Acetona (Merck)

Agua destilada

Alcohol etílico absoluto (Merck)

7 METODOS Y TECNICAS

METODOS

El estudio fué realizado en etapas y la metodología por lo tanto, se describe en orden cronológico.

I

Para determinar el porcentaje de portadores asintomáticos en una población infantil, se realizó un muestreo a 124 infantes de jardines de niños los cuales no mostraban ninguna sintomatología de infección faringoamigdalina. Las muestras fueron tratadas como se indica mas adelante en la sección correspondiente a técnicas.

II

Las cepas de estreptococo betahemolítico para el estudio de la sensibilidad e incidencia fueron colectadas de la Clínica 25 del I.M.S.S., Hospital Ignacio Zaragoza del I.S.S.S.T.E., del Laboratorio Central de Análisis Clínicos Zaragoza y del muestreo realizado en jardines de niños, en todo momento cuidando que las cepas fueron aisladas de exudados faringeos.

En la clínica perteneciente al I.S.S.S.T.E. se usa el reactivo de coagulación en placa "Phadebact Streptococcus" para identificar al grupo que corresponde el estreptococo

co aislado, además de practicar la prueba rutinaria de la sensibilidad a la Bacitracina.

En la clínica del I.M.S.S. sólo se practica la sensibilidad a la bacitracina.

De cualquier forma, en el laboratorio a cada cepa se le practicó nuevamente la sensibilidad a bacitracina y la - - prueba de C.A.M.P..

Con base a las pruebas realizadas se dividieron las cepas obtenidas en estreptococos betahemolíticos del grupo A- (Bacitracina +, C.A.M.P.-) y estreptococos betahemolíticos diferentes del grupo A.

Se debe aclarar que el muestreo se realizó ininte- - rrumpidamente los días laborables de cada semana (de lunes a viernes) a partir del mes de agosto de 1984 hasta Marzo de - - 1985, observándose una baja muy sensible en el número de análisis de Exudado Faríngeo en la segunda quincena de diciembre y en los primeros días de enero en los hospitales donde se - - realizó el muestreo.

III

A todas las cepas obtenidas se les realizó su sensibilidad a antibióticos por el método de Bauer-Kirby, utilizan

do para ello multidiscos comerciales en placas de agar sangre de carnero al 5%. En la sección correspondiente a Técnicas - se encuentra detallado el procedimiento.

IV

Para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria, se utilizó la técnica de diluciones en agar. Esta técnica -- fué ensayada tanto para los estreptococos beta hemolíticos del grupo A, como para los diferentes al mismo grupo.

TECNICAS

- 1) Toma de muestra: Se obtienen muestras de exudado faríngeo- de personas asintomáticas y sintomáticas- (principalmente población pediátrica) en- condiciones asépticas, frotando fuertemen- te las amígdalas y la zona posterior de - las mismas con un hisopo estéril cuidando no tocar la lengua ni mojar el hisopo con saliva, utilizando abatelenguas en los ca- sos necesarios para fijar la lengua y des- cubrir adecuadamente las amígdalas.

- 2) Siembra y cultivo: sembrar en la placa de agar sangre y -- Staph.-110, depositando un inóculo con el hisopo y realizar estrías en tres cuadran

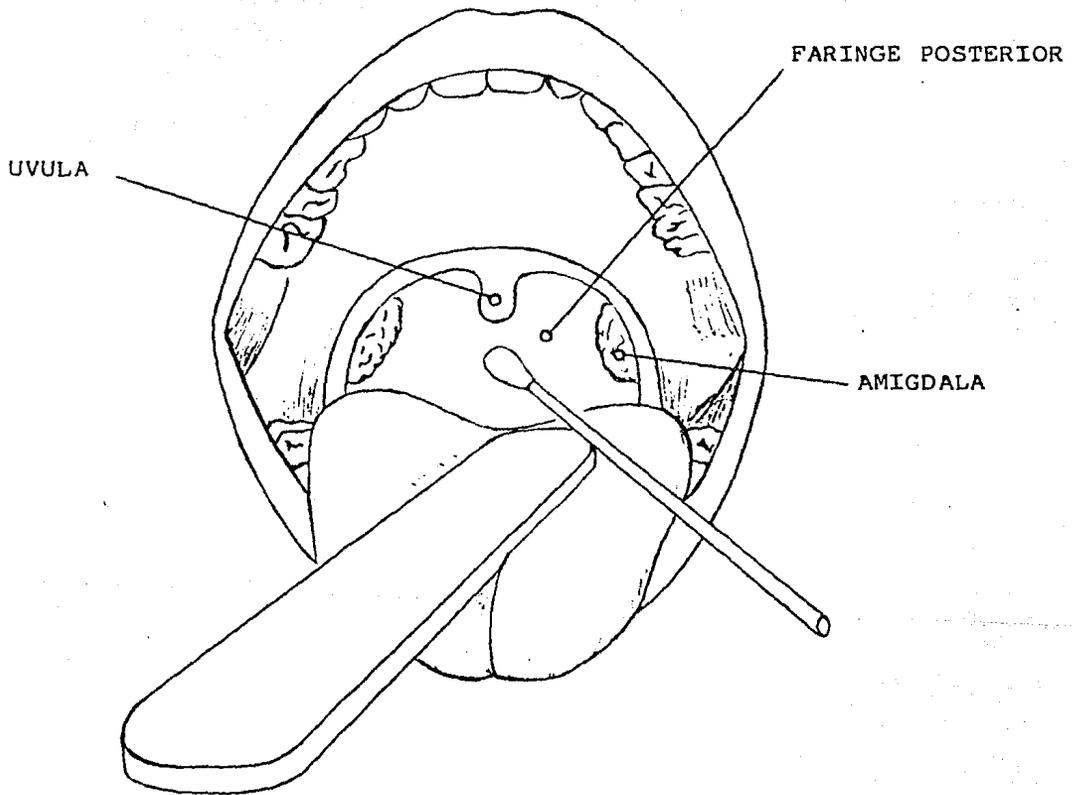


Figura 7.0. Toma de muestra en un Exudado Faríngeo.

tes con un asa bacteriológica. Incubar a 37°C por 24 Hrs. Si no se puede sembrar directamente en la placa, poner el hisopo en un ml de caldo enriquecido (BHI o tioglicolato), incubar de 2 a 4 hrs a 37°C y después eliminar el exceso de caldo "exprimiendo" el hisopo en el tubo y pasar a las cajas de Agar Sangre y Agar S-110.

- 3) Diferenciación e identificación: observar colonias circulares pequeñas, lisas, convexas y rodeadas de una zona beta hemolítica en agar sangre. Teñir por el método de Gram y observar al microscópio cocos grampositivos agrupados en cadenas, en pares o solos. Realizar la prueba de la catalasa, C.A.M.P. y sensibilidad a la bacitracina. Para las últimas dos pruebas, dividir en dos una caja de agar sangre y sembrar cada cepa como se muestra en la figura 7.1: es triando en tres direcciones para la sen sibilidad a las Bacitracina y realizando una só la estría para la prueba de C.A.M.P. perpendicular a la del Staph. aureus beta hemolítico, incubar a 37°C por 24 Hrs y leer (Fig. 7.1.b-d)

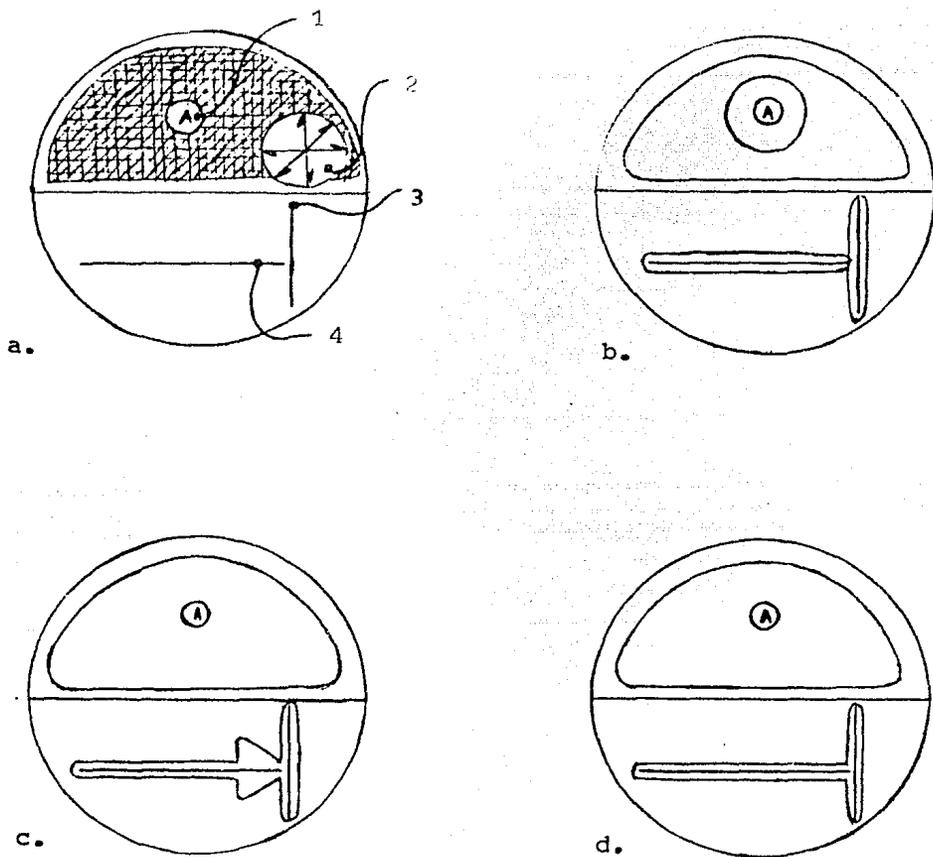


Fig. 7.1 - Procedimiento e interpretación de las pruebas la sensibilidad a Bacitracina y CAMP

- a. 1 Disco, A de Bacitracina
 - 2 Dirección de las estrias de Strep. beta hemolítico
 - 3 Estria de Staph. aureus beta hemolítico
 - 4 Estria de Strep. beta hemolítico
- b. Strep. beta hemolítico Gpo. A presuntivo por Bacitracina
 - c. Strep. beta hemolítico Gpo. B presuntivo por C.A.M.P.
 - d. Strep. beta hemolítico diferente del Gpo. A y B por Bacitracina v C.A.M.P. respectivamente.

4) Sensibilidad a Antibióticos: a) Técnica de difusión de --
 Bauer-Kirby: con la cepa pura, inocular -
 uniformemente una placa de Agar Sangre, -
 colocar un multidisco de papel filtro en -
 el cual están contenidos los discos de --
 antibióticos para la prueba. Poner las -
 cajas a incubar a 37°C por 24 Hrs.

Medir hasta el milímetro más cercano el -
 diámetro del halo de inhibición de cada -
 antibiótico.

b) Técnica de dilución en agar: para de--
 terminar la concentración mínima inhibitor
 ria (CMI), se preparan seis concentracio-
 nes diferentes para cada antibiótico en -
 medio sólido de la siguiente manera:

ANTIBIOTICO	Nº de CAJA Y CONCENTRACION (g/ml)					
	1	2	3	4	5	6
PENICILINA	0.005	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16
AMPICILINA	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
CEFALOTINA	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
TETRACICLINA	0.10	0.20	0.40	0.80	1.60	3.20
ERITROMICINA	0.03	0.06	0.12	0.24	0.48	0.96
GENTAMICINA	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	16.0

Además poner a cultivar una asada de la -
 cepa en caldo tioglicolato y cuando tenga

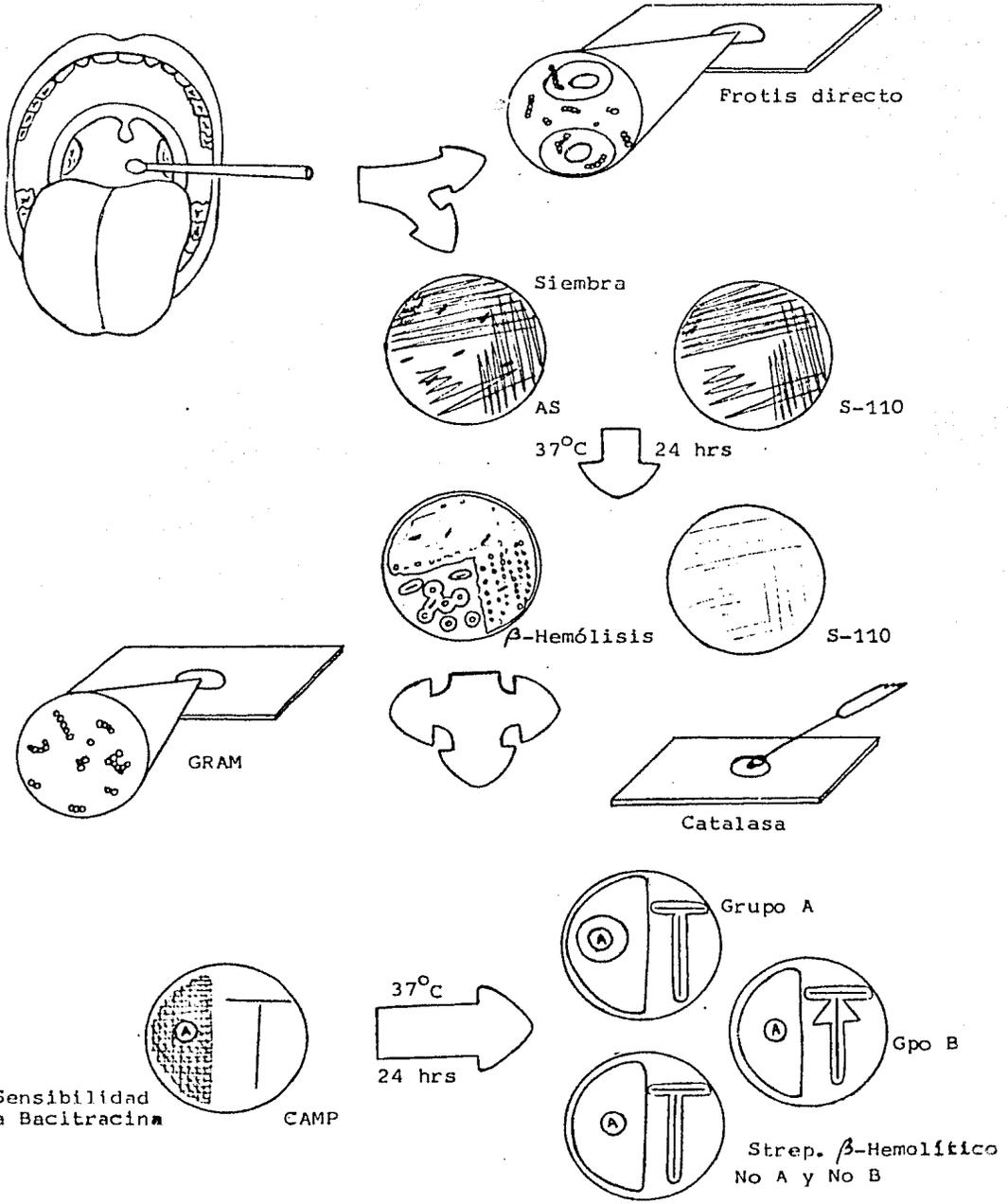
una turbidez igual al tubo uno de McFarland, realizar una dilución 1:100 y sembrar en forma de gotas (aprox. $3-5 \times 10^5$ bacterias/gota) sobre la superficie del medio sólido y en cada una de las diluciones, incubar a 37°C por 24 Hrs y ver cual es la dilución más baja de cada antibiótico que inhibió el crecimiento bacteriano. Realizar diluciones mayores si en ninguna caja se presenta crecimiento y a la inversa si en todas se presenta.

5) Control de calidad: Para los sensibilizadores, se controla con una cepa de Staph. aureus con sensibilidad antimicrobiana conocida.

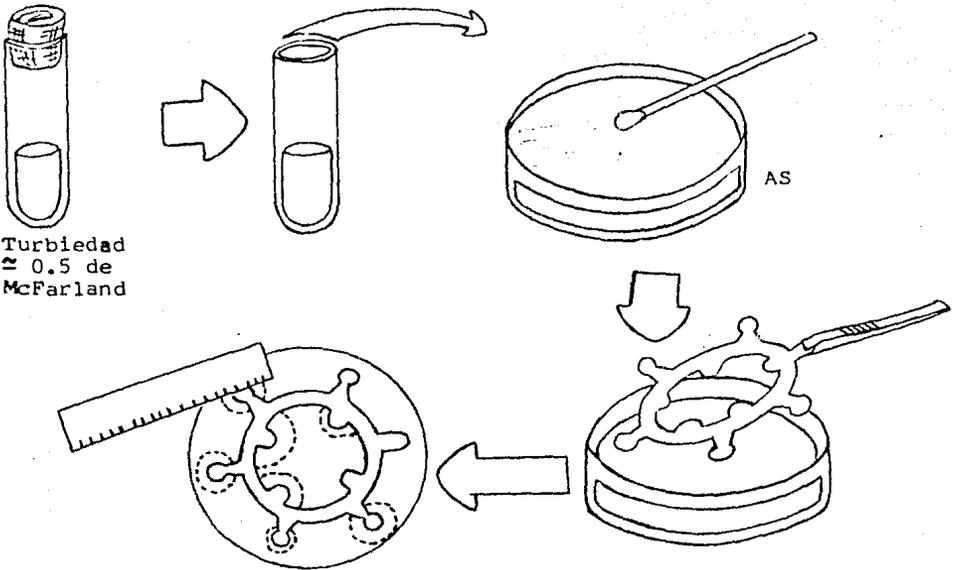
Los medios de cultivo deben ser recientes y comprobarseles su esterilidad mediante incubación a 37°C por 24 Hrs. La cantidad del agar para cada caja es de 20 ml aproximadamente.

Para los discos de Bacitracina se toma en cuenta su fecha de caducidad y se deben probar con un estreptococo beta hemolítico del grupo A tipificado y sensible a la bacitracina.

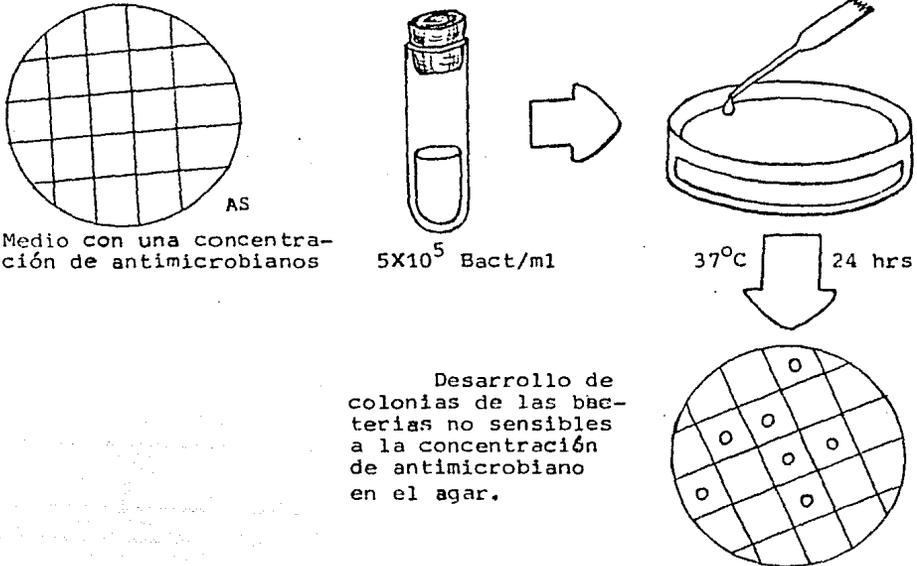
Resúmen Ilustrativo I: AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE ESTREPTOCOCO β -HEMOLITICO



Resúmen ilustrativo II: TECNICAS DE SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS;
BAUER-KIRBY Y DILUCION EN PLACA



Técnica de Dilución en placa



8 RESULTADOS

Los resultados son mostrados en forma de tablas y de acuerdo con la metodología descrita, es decir, en orden cronológica.

I.

La tabla 8.1 muestra el porcentaje obtenido de portadores asintomáticos de estreptococos betahemolíticos y de Staphylococcus aureus encontrado en el muestreo realizado a 124 infantes de jardines de niños.

TABLA 8.1- Porcentaje de portadores asintomáticos de estreptococos β -hemolíticos y <u>Staph. aureus</u> .		
BACTERIA AISLADA DE MANERA PREDOMINANTE	NUMERO DE NIÑOS	PORCENTAJE
Estreptococo β -hemolítico	5	4.04 %
<u>Staphylococcus aureus</u>	16	12.90 %
Flora normal*	103	83.06 %
TOTALES	124	100.00 %
<p>*Flora normal es el grupo de bacterias que se consideran no patógenas para el hombre en condiciones normales y que habitan las membranas mucosas de cavidad oral y otras zonas característicamente.</p>		

II.

A los estafilococos aislados se les realizó un antibiograma por el método de difusión (Bauer-Kirby) obteniéndose los resultados que se tabulan en la siguiente tabla (Tabla 8.2)

TABLA 8.2- Sensibilidad a antimicrobianos de <u>Staph. aureus</u> .			
ANTIMICROBIANO	CONC. POR DISCO	SENSIBILIDAD (PROMEDIO EN mm)	EQUIV. EN CRUCES*
CEFALOTINA	30 µg	27.5	+++
CEFOTAXIMA	30 µg	23.8	+++
ERITROMICINA	15 µg	19.3	+++
GENTAMICINA	10 µg	16.0	+++
TETRACICLINA	30 µg	24.2	+++
SULF-TRIM	25 µg	muy variable	+ δ +++
AMPICILINA	10 µg	----	+
PENICILINA	10 u	----	+

* += resistente, ++= sensibilidad media, +++= sensible

Al notar que estas cepas eran totalmente resistentes a penicilina y ampicilina, se decidió realizar la prueba de la producción de betalactamasa por un método acidométrico (16) misma que resultó positiva.

III.

La Tabla 8.3 muestra la incidencia de estreptococos divididos en β -hemolíticos del grupo A y diferentes al mismo grupo por C.A.M.P. y Bacitracina.

TABLA 8.3- Incidencia por grupo de Estrep. β - hemolítico.		
CEPAS DE:	NUMERO DE CEPAS	PORCENTAJE DE CEPAS
Estreptococo β - hemolítico A	106	82.8
Estreptococo β - hemolítico no A	22	17.2
TOTALES	128	100.0

Se debe aclarar que el muestreo se realizó ininterrumpidamente los días laborables (de lunes a viernes) de cada semana a partir del mes de Agosto de 1984 hasta Marzo de 1985, observándose una baja muy sensible en el número de análisis de Exudado Faríngeo en la segunda quincena de diciembre y en los primeros días de enero en los hospitales donde se realizó el muestreo.

IV.

Los resultados de la sensibilidad a antibióticos por el método de Bauer-Kirby, se pueden observar en la tabla 8.4 en donde se tabula el promedio de los halos de inhibición tanto para los estreptococos del grupo A como para los diferentes al mismo grupo.

V.

A las cepas obtenidas también se les determinó la concentración mínima inhibitoria (C.M.I.) de los mismos antimicrobianos usando el método de diluciones en agar obteniéndose

los resultados mostrados en la Tabla 8.5 tanto para los estreptococos beta hemolíticos del grupo A como para los diferentes al grupo A.

TABLA 8.4- Sensibilidad de estreptococos β - hemolíticos por el método de difusión de Bauer-Kirby.

ANTIMICROBIANO	CONC. POR DISCO	DIAMETRO DE INHIBICION PROMEDIO EN mm DE ESTREPTOCOCOS β -HEM.	
		A	no A
AMPICILINA	10 μ g	23.9	19.6
CEFALOTINA	30 μ g	31.0	26.5
ERITROMICINA	10 μ g	22.5	22.5
GENTAMICINA	10 μ g	17.4	15.5
PENICILINA	10 u	32.5	27.6
TETRACICLINA	30 μ g	22.1	22.8

TABLA 8.5- Concentración mínima inhibitoria de estreptococos β - hemolíticos por el método de disolución en agar.

ANTIMICROBIANO	C.M.I. PROMEDIO EN μ g/ml DE ESTREPTOCOCOS BETAHEMOLITICOS.	
	A	no A
AMPICILINA	0.0376	0.047
CEFALOTINA	0.1190	0.131
ERITROMICINA	0.283	0.260
GENTAMICINA	4.3	5.3
PENICILINA	0.028	0.027
TETRACICLINA	0.797	0.63

9 ANALISIS DE RESULTADOS

En la primera etapa notamos que, si se dan las condiciones adecuadas, el estreptococo beta hemolítico es capaz de diseminarse fácilmente e infectar a personas que pueden o no manifestar sintomatología; en el segundo caso es más difícil el control epidemiológico, ya que sólo se podría detectar la infección realizando los análisis de laboratorio (Cultivo de Exudado Faríngeo, Antiestreptolisinas, Etc.) y para esto sería necesario llevar un control sanitario estricto en los lugares concurridos y sobre todo en los colegios y jardines de niños o guarderías. Estos lugares representan el primer lugar donde, generalmente, tienen contacto los niños (principal población afectada por el estreptococo beta hemolítico). Lamentablemente, también existe una muy mala educación higiénica en el grueso de la población que se ve reflejada en el decremento de análisis bacterianos en las épocas festivas de fin y comienzo de año, todo esto aunado a que el clima es propicio para la diseminación del estreptococo beta hemolítico, contribuyen a una mayor incidencia del mismo.

Por otro lado se observa en la Tabla 8.1 que existe un mayor porcentaje de portadores asintomáticos de Staph. aureus (12.9%) que de estreptococo beta hemolítico (0.04%) y aunque sabemos que el Staph. aureus puede considerarse como

oportunista, la importancia que se le ve es un probable sinergismo con el estreptococo betahemolítico ya que, como se observa en la etapa II, la mayoría de los estafilococos son resistentes a ampicilina y penicilina por la producción de beta lactamasa, enzima que puede inactivar las concentraciones de estos antibióticos en las amígdalas que conlleva a estreptocóccias de reincidencia con sus indeseables secuelas: Fiebre reumática o glomerulonefritis aguda.

En la etapa III, observamos que de los estreptococos betahemolíticos aislados (128), casi una quinta parte no pertenece al grupo A (presuntivo por bacitracina) y como se ve en la tabla 8.4, son menos sensibles a antibióticos betalactámicos (Ampicilina, Cefalosporina y Penicilina) en comparación con los estreptococos betahemolíticos del grupo A, lo que puede indicar que es más factible que aparezca la resistencia a antibióticos betalactámicos en estreptococos betahemolíticos de grupo diferente al A que en los del grupo A. De cualquier forma se comprueba una total sensibilidad de los estreptococos a los antibióticos ensayados, como se puede apreciar si comparamos los resultados obtenidos en la tabla 8.4 con la tabla 9.1 en la que aparecen los diámetros del halo de inhibición en mm y la correspondiente sensibilidad a los antimicrobianos.

TABLA 9.1- Interpretación convencional de los halos de inhibición de los antimicrobianos empleados.				
ANTIMICROBIANO	CONC. POR DISCO	RESISTENTE	DIAMETRO EN mm	
			SENS. MEDIA	SENSIBLE
AMPICILINA	10 μ g	11	12-21	22
CEFALOTINA	30 μ g	14	15-17	18
ERITROMICINA	15 μ g	13	14-17	18
GENTAMICINA	10 μ g	12	-----	13
PENICILINA	10 u	11	12-21	22
TETRACICLINA	30 μ g	14	15-18	19

Ahora bien, si observamos las C.M.I. obtenidas, vemos que la penicilina benzatínica puede no ser del todo adecuada para el tratamiento de faringoamigdalitis por estreptococo ya que su C.M.I. es de 0.028 μ g/ml en promedio y la concentración alcanzada en sangre fluctua entre 0.01 y 0.06 μ g/ml (tabla 9.2) lo que deja a algunas personas con una concentración inadecuada de antibiótico para poder erradicar al microorganismo. Es también notorio que de todos los antimicrobianos ensayados, la Gentamicina es la menos recomendable para el tratamiento de los procesos infecciosos por estreptococo, debido a que se encontró su C.M.I. para el estreptococo de 4.8 μ g/ml (en promedio) y la concentración que alcanza en sangre es de 4-7 g/ml por lo que puede llegar a no ser efectivo.

De los otros antimicrobianos, se observa que del grupo de los betalactámicos, la Cefalotina puede ser la más efectiva, ya que actúa tanto sobre el estreptococo como sobre el estafilococo productor de penicilinas.

Por otro lado, a las personas alérgicas a betalactámicos se les puede administrar la eritromicina o la tetraciclina con una buena aceptación, de cualquier forma es necesaria la vigilancia médica para que el tratamiento se efectúe completo y con ello una erradicación del microorganismo evitando de esta manera las secuelas tan graves que deja.

TABLA 9.2 Concentraciones alcanzadas en sangre de los antimicrobianos empleados.

ANTIMICROBIANO	DOSIS Y VIA	CONCENTRACION EN $\mu\text{g/ml}$ AL TIEMPO-DE TOMA
AMPICILINA	500 mg/v.o.	3/2 Hrs.
	500 mg/i.m.	6/1 Hrs.
	1.5 g/i.v.	29/30 min.
CEFALOTINA	1.0 g/i.m.	18/30 min.
	2.0 g/i.v.	80/5 min.
ERITROMICINA	500 mg/v.o.	3/2 Hrs.
GENTAMICINA	1.5 mg/Kg/i.v.	5-7/15 min.
	1.0 mg/Kg/i.m.	4/1 Hrs.
PENICILINA G	1.2 x 10 ⁶ u/i.m.	0.1/24 Hrs.
	BENZATINA	0.01-0.06/24 Hrs
	PROCAINA	3 x 10 ⁵ u/i.m.
TETRACICLINA	250 mg/v.o.	3/2-4 Hrs.

10 CONCLUSION

El estreptococo beta hemolítico, principal agente etiológico bacteriano de faringoamigdalitis, se encuentra asintóticamente en un 4.04% de la población preescolar en Cd. Nezahualcoyotl. Este microorganismo tiene una gran facilidad de dispersión debido a la mala educación e higiene de la población sobre todo en los meses fríos del año en donde el clima es propicio para las infecciones de vías respiratorias.

De las especies de estreptococos beta hemolíticos los del grupo A son las más implicadas con un 82.8% sobre los demás grupos, siendo todos sensibles a antibióticos betalactámicos -- (aunque en menor grado los de grupos diferentes al A). Es preferible tratar las faringoamigdalitis con Cefalotina o cualquier otra Cefalosporina, como antibiótico betalactámico, ya que son efectivas contra Staph. aureus productor de penicilinasa, enzima que inactiva la concentración local de penicilina. Si se utiliza penicilina benzatínica se corre el riesgo de que, aún sin flora productora de betalactamasas, la concentración alcanzada en sangre no sea la adecuada después de algunos días de administrado el medicamento.

Por otra parte, para las personas alérgicas a antibióticos betalactámicos, la Eritromicina conserva su vigencia --

aunque también puede emplearse la Tetraciclina pero con mayor -
recelo en la población pediátrica debido a sus efectos colatera
les, estos antimicrobianos también son efectivos contra el - -
Staph. aureus productor de penicilinasas.

Finalmente, es recomendable una educación higiénica pa
ra la población en la cual se concientice que estas infecciones
(faringoamigdalitis) no tienen mayor importancia por la infec--
ción en sí, sino por las secuelas que puede dejar. Otro aspec-
to es el epidemiológico, ya que si sabemos que estamos frente a
una enfermedad endémica, sería conveniente pedir como requisito
de entrada a cualquier guardería, jardín de niños o primaria, -
el cultivo de exudado faríngeo y el título de antiestreptolisini-
nas, aunque obviamente ésto resulta utópico debido a las condi-
ciones económicas que se viven actualmente a nivel nacional.

ANEXO A

CRECIMIENTO DE LA PARED CELULAR DE STREPTOCOCCUS
pyogenes.

Durante la multiplicación del Streptococcus pyogenes, el nuevo material de la pared celular se deposita centrípetamente, de manera que los futuros nuevos hemisferios de los nuevos cocos inician dándose la espalda. Esto se demostró haciendo crecer a Streptococcus pyogenes en un medio que contenía un anticuerpo fluorescente contra la proteína M microcapsular tipo específica o contra el polisacárido C específico de grupo, y después se incubó en un medio con el mismo anticuerpo, pero sin marcador fluorescente. El resultado del experimento en función del tiempo puede observarse en la figura A.1, en la que las regiones oscuras indican fluorescencia. (38)

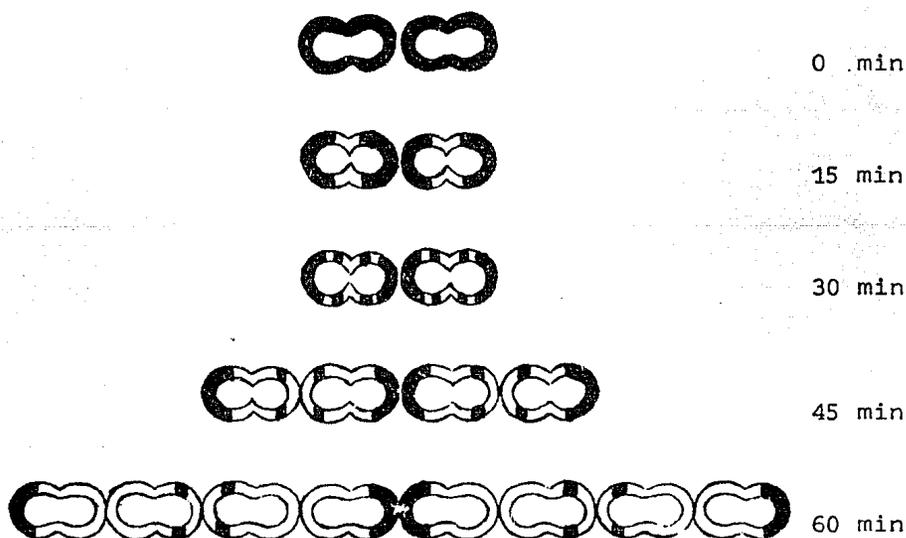


Figura A.1- Representación esquemática del aspecto inmunofluorescente de la pared celular de Streptococcus pyogenes durante su crecimiento.

ANEXO B

Sensibilidad a antimicrobianos en función del halo de inhibición en la prueba por difusión. (4, 14, 28).

ANTIMICROBIANO	contenido del disco	RESISTENTE Diametro en mm.	MEDIO	SENSIBLE
Cefotaxima	30 μ ug	≤ 15	16-17	≥ 18
Cefalosporina	30 μ ug	≤ 14	15-17	≥ 18
Ampicilina	10 μ ug (Gram(-))	≤ 11	12-13	≥ 14
	(S. aureus)	20	21-28	≥ 29
	(Otros)	≤ 11	12-21	≥ 22
Cloxacilina	5 μ ug	≤ 9	10-14	≥ 15
Eritromicina	15	≤ 13	14-17	≥ 18
Gentamicina	10 μ ug	≤ 12	---	≥ 13
Lincomicina	10 μ ug	≤ 12	13-14	≥ 15
Novobiocina	30 μ ug	≤ 17	18-21	≥ 22
Penicilina G	10 u (S. aureus)	≤ 20	21-28	≥ 29
	(otros)	≤ 11	12-21	≥ 22
Estreptomicina	10 μ ug	≤ 11	12-14	≥ 15
Sulf-Trim.	25 μ ug	≤ 10	11-15	≥ 16
Tetraciclina	30 μ ug	≤ 14	15-18	≥ 19
Cloranfenicol	30 μ ug	≤ 12	13-17	≥ 18
Ac. Nalidixico	30 μ ug	≤ 13	14-18	≥ 19
Carbenicilina	100 μ ug	≤ 17	18-22	≥ 23
Furadantina	300 μ ug	≤ 14	15-16	≥ 17
Cefadroxil	30 μ ug	≤ 14	15-17	≥ 18
Ac. Oxilínico	10 μ ug	≤ 13	14-18	≥ 19
Colimicina	10 μ ug	≤ 8	9-10	≥ 11
Amikacina	30 μ ug	≤ 17	---	≥ 18
Kanamicina	30 μ ug	≤ 13	14-17	≥ 18
Sisomicina	10 μ ug	≤ 11	12-14	≥ 15
Tobramicina	10 μ ug	≤ 10	11-13	≥ 14
Rifocina	5 μ ug	≤ 24	---	≥ 25

Bacitracina	10 u	≤ 8	9-12	≥ 13
Cefalotina	30 μ g	≤ 14	15-17	≥ 18
Meticilina	5 μ g	≤ 9	10-13	≥ 14
Neomicina	30 μ g	≤ 12	13-16	≥ 17
Oleandomicina	15 μ g	≤ 11	12-16	≥ 17
Polimixina-B	300 u	≤ 8	9-11	≥ 12
Vancomicina	30 μ g	≤ 9	10-11	≥ 12

11 BIBLIOGRAFIA

- 1) Antibiotic resistance; transposition and other mechanisms. Fourth international symposium on antibiotic resistance. Castle of Smolenice, Czechoslovakia. Publishers: Avicenum. Praga, Checoslovaquia, 1979, pp.309-320.
- 2) Applebaum, P.C. et al. Multiple - antibiotic-resistant pneumococci. South Africa. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 26:285 - (1977).
- 3) Baker, C.N. et al. Synergism. Killing kinetics, and antimicrobial susceptibility of group A y B streptococci. Antimicrob. Agents Chemother. 19 (5): 716-725. (1981).
- 4) Bauer, A.W.; Kirby, W.M. et al. Antibiotic susceptibility - testing by a standardized single disc method. AM. J. Clin.-Path. 45: 493-496 (1966).
- 5) Boletín de la O.S.P. Antibióticos. 96 (1): 68-71 (1984)
- 6) Boletín de la O.S.P. Antibióticos; resistencia. 92 (1):72 - (1982).
- 7) Hourbeau, P. et al. Current antibiotic susceptibility of -- group A beta hemolytic streptococci. J. Infect. Dis. 145(6): 916 (1982).
- 8) Brook, I. et al. In vivo protection of group a beta-haemolytic streptococci from penicillin by beta-lactamase-producing Bacteroides species. J. Antimicrob. Chemother. 12(6);599-666 (1983).

- 9) Calderón, E. Aplicación química de antibióticos y quimioterápicos. Editor Francisco Méndez Cervantes, 5a. edición. D.F., México 1984 pp. 348-351, 412.
- 10) Calderón, E. y de la Cruz, R. Mecanismos de adherencia bacteriana. *Infectología*. 2(6): 411-421 (1982)
- 11) Capella, A, Tay, J y del Muro, R. Nociones elementales de microbiología medica. Editorial Francisco Mendez Cervantes, - 1a. Ed. México (1978).
- 12) Clasener, H. Pathogenicity of the L-phase of bacteria. *Annu. Rev.* 26: 55-84 (1972).
- 13) Davis, B. Dulbecco, R. Tratado de Microbiología. Editorial-Salvat 2a. Edición, México (1979).
- 14) Ericsson, H.M., and Sherris, J.C. Antibiotic sensitivity -- testing. Report of an international collaborative study. - *Acta Path. Microbiol. Scand. B, Suppl.* 217, 1-90 (1971).
- 15) Gentry, J.L., and Burns, W.W. Antibiotic-resistant streptococci. *Am. J. Dis. Child.* 134: 801 (1980).
- 16) González, A. y Camorlinga, M. Determinación de beta lactamas en bacterias gramnegativas. *Infectología*. 2(6):423-425 (1982).
- 17) Goodman, L. y Gilman, A. Bases farmacológicas de la terapéutica. Editorial Interamericana. 5a. Edición. México (1978).
- 18) Gutman, L. et al. Penicillin-resistant and penicillin-tolerant mutants of group A streptococci. *Antimicrob. Agents - Chemother.* 22(1); 128-136 (1982).

- 19) Haddy, R.I. et al. Erithromycin resistance in group A beta-hemolytic streptococci. *Pediatr. Infect. Dis.* 1(4): 236-238 (1982).
- 20) Hakenbeck, R.; Tarpay, M., and Tomasz, A Multiple changes of penicillin-binding proteins in penicillin-resistant clinical isolates of Streptococcus pneumoniae. *Antimicrob. Agents. -- Chemother.* 17 (3); 374-371 (1980).
- 21) Harrison. *Medicina interna*. Edit. Prensa Médica. 4a. Edición México (1973).
- 22) Horodiceanu, T., Bougueleret, L. and Bieth, G. Conjugative-transfer of multiple-antibiotic resistance markers in beta-hemolytic group A, B, F and G streptococci in the absence - of extrachromosomal deoxyribonucleic acid. *Plasmid* 5(2); -- 127-137 (1981).
- 23) Istre, G.R. et al. Susceptibility of group A beta hemolytic streptococci isolates to penicillin and erythromycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 20(2);244-246 (1981).
- 24) Jawest, E. Melnick, J. Adelberg, E. *Microbiología Médica*. - Editorial El Manual Moderno. 11a. Edición. México (1985) -- pp 33-62.
- 25) Kabanagh. F. *Analytical Microbiology*. Academic Press. New - York (1979).
- 26) Koornhof, H.J. et al. Follow up on a multiple antibiotic re- sistant pneumococci. South Africa. *Morbidity Mortal Weekly -- Rep.* 27: 1 (1978)

- 27) Kumate, J. y Gutierrez, G. Manual de Infectología. Ediciones Médicas del Hospital Infantil de México "Federico Gomez" 7a. Edición. México (1980). 90-98.
- 28) Lennette, E. Spaulding, E. y Truant, J. Manual of clinical-microbiology. American Society for microbiology. Second -- Edition. Washington, D.C., United States of America. (1976).
- 29) Mac Faddin. Pruebas bioquímicas. Editorial Panamericana. 4a. Edición. D.F., México, 1975.
- 30) Manclark, Ch. Laboratory manual for medical bacteriology. Appleton-Century-Crofts. Fifth edition. New York, E.E.U.U. (1972).
- 31) Mc Carty, M. The biology of group A streptococci. Arch. Inst. Cardiol. Méx. 49(1): 68 (1979).
- 32) Mondkar, A. The bacitracin sensivity test for identifying betahaemolytic streptococci of Landcefiel group A. J. Posgrad Med. 27 (2):86-9 (1981).
- 33) Olarte, J. Quimioterapia de las infecciones y resistencia-bacteriana. Bol. Med. Hosp. Inf. 35(2);295 (1978).
- 34) Organización Panamericana de la Salud. Neisseria gonorrhoeae productora de betalactamasa. Bol. Epid. 2(4); 2 (1981).
- 35) Pichardo, E. Pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos. Infectología. 2(3): 215-222 (1982).
- 36) Reilly, S., Timmis, P., Beeden, A. et al. Role possible of the anaerobic bacteria in pharyngitis. J. Clin. Pathol. -- 34:32 (1981).

- 37) Robins-Browne et al. Resistance mechanisms of multiple resistant pneumococci: Antibiotic degradation studies. Antimicrob. Agents Chemother. 15: 470 (1979).
- 38) Rose, A. Microbiología química. Editorial Alhambra, 2a. edición, Madrid, España (1977).
- 39) Rosenstein, E. y Cols. PLM: Diccionario de especialidades farmacéuticas. Ediciones P.L.M. Vigésima séptima edición. D.F., México. 1981.
- 40) Toporovski, J.; Mimica, I. Concentrações plasmáticas após a inoculação de penicilina benzatina. AMB Rev. Ass. Med. Bras. 27 (1); 5-7 (1981)
- 41) Ubukata, K.; Konno, M. and Fuji, R. Transduction of drug resistance to tetracycline, chloramphenicol, lincomycin and clindamycin with phage induced from Streptococcus pyogenes. J. Antibiot. 28;681-688 (1975).
- 42) Unidad didáctica IV. Facultad de medicina U.N.A.M. Ciclos IX y X (Internado) D.F., México 1980 pp 208-21.
- 43) Youmans, G.P. Infectología clínica. Editorial Interamericana Segunda edición. D.F. México 1982, pp. 209-234, 857-931.
- 44) Zigelboim, S. and Tomasz A. Penicillin-binding proteins of multiply antibiotic-resistant. South African Strain of Streptococcus pneumoniae. Antimicrob. Agents Chemother. 17 (3): 434 (1980).