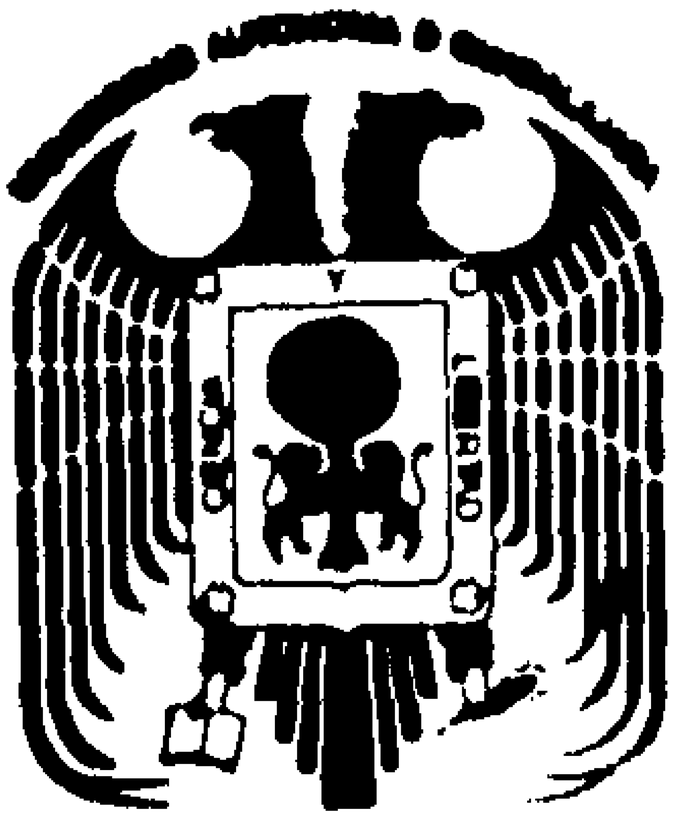
870127

26
24

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DEL ESTREPTOCOCO GRUPO "C" A PARTIR DE EXUDADO FARINGEO EN UNA POBLACION ESTUDIANTIL.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

ELSA MARGARITA ROMO VALENZUELA

ASESOR: Q. F. B. MA. DEL SOCORRO PULIDO Q.

GUADALAJARA JAL, ENERO DE 1986

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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 está 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.

INDICE.

PAGS.

CAPITULO I INTRODUCCION..... 2

CAPITULO II GENERALIDADES..... 5

2.1.Caracteres.de.Cultivo..... 6

2.2Clasificación..... 8

2.3 Estreuctura Antigénica 11

2.4 Metabolitos Extracelulares..... 14

2.5 Diferenciación Fisológica..... 16

2.6 Patogenicidad..... 22

CAPITULO III MATERIAL Y METODOS..... 26

CAPITULO IV RESULTADOS..... 34

CAPITULO V CONCLUSIONES..... 40

CAPITULO VI BIBLIOGRAFIA 43

I N T R O D U C C I O N.

I N T R O D U C C I O N.

El género STREPTOCOCCUS incluye un muy variado y amplio grupo de bacterias, causantes de varios tipos clínicos de enfermedades en el hombre y animales inferiores.

Durante mucho tiempo se consideró que los Estreptococos del Grupo "A" eran los causantes de patologías en el humano, pero en la actualidad se ha encontrado a los Estreptococos del Grupo "C" como agentes causales de infecciones iguales clínicamente.

Los Estreptococos del Grupo "C" colonizan nasofaringe, piel y tracto genitourinarios en personas sanas. No obstante de ser saprófitos han sido reportados como agentes de Amigdalitis, Celulitis, Fiebre Puerperal, infecciones que pueden tener como secuelas Adenitis Cervical Meningitis, Endocarditis, Artritis y Bacteremía. Se han reportado casos en los que se comportan como verdaderos oportunistas en post-operatorios y pacientes leucémicos.

Estos Estreptococos pueden instalarse en región nasal y faríngea de personas sanas sin causar daño aparente convirtiéndose estos en portadores sanos y en una fuente potencial de contaminación para salas de operaciones, maternidades y hospitales.

En el campo veterinario este grupo de Estreptococos tiene mucha importancia, ya que las cuatro especies Streptococcus equisimilis, Streptococcus equi, Streptococcus zooepidemicus, Streptococcus dysgalactis, son causantes de diversas patologías en animales domésticos y de importancia ganadera.

En animales causan enfermedades serias y epidémicas como son" --- Estrangulamientos en caballos, Septicemias en caballos, vacas, borregos, zorros, cerdos, Neumonía en ganado equino y bovino, Abortos en vacas y - cerdos, Absceso en caballos, Mastitis de la vaca importante fuente de -- contaminación para el hombre por medio de la leche.

Los animales colonizados o infectados debido a su carácter doméstico y su frecuente contacto con el hombre se convierten en fuentes potenciales de contagio para las personas.

En vista de las serias complicaciones que puede tener una Faringitis por Estreptococo Grupo "C" no diagnosticada, se propone el desarrollo del presente trabajo, que se efectuará en una población de jóvenes - estudiantes que practican deportes en campos de tierra suelta, con la -- consecuente inhalación de polvo por varias horas, siendo esto una pre--- disposición para el desarrollo de una Faringitis o Infección de tracto - respiratorio.

GENERALIDADES.

G E N E R A L I D A D E S.

El género STREPTOCOCCUS incluye un grupo muy amplio de microorganismos, entre los cuales hay muchas especies útiles e inofensivas, y --- tambien algunos de los patógenos más peligrosos que han causado a través de los siglos más enfermedad y morbilidad que muchas otras bacterias.

Los microorganismos del género STREPTOCOCCUS guardan caracteres - comunes de grupo como el de:

a).- Ser cocos, células esféricas u ovoides con un diámetro de- 0.8 a 1.0 micras.

b).- Gram positivos, al menos en cultivos jóvenes.

c).- Tener arreglo característico, formando cadenas de 4 a 6 elementos o cadenas más largas, dichas cadenas tienen el aspecto de eslabones de diplococos con mayor proximidad de los que forman pares con pares adyacentes.

d).- Aerobios y anaerobios facultativos.

e).- Carecen de motilidad, con algunas excepciones del Grupo "D".

f).- Catalasa y oxidasa negativos.

g).- No esporulados.

h).- Solo las especies del Grupo "A" y "C" poseen cápsula, formada de ácido hialurónico, la que se cree puede estar relacionada con su patogenicidad.

i).- Fermentar carbohidratos produciendo grandes cantidades de -- ácido láctico, sin gas. La utilización de diferentes carbohidratos por - cada especie es de gran utilidad en su diferenciación por el laborato-- rio.

Caracteres de Cultivo..

Los Estreptococos se encuentran entre las bacterias más exigentes en cuanto a necesidades nutritivas, crecen pobremente o no lo hacen en medios simples, pero desarrollan bien en medios enriquecidos con suero sanguíneo, sangre completa o desfibrinada, líquido ascítico y pleural, dichos medios pueden mejorarse incluyendo un fosfato amortiguador que evite el decaimiento del pH ocasionado por la producción de ácido láctico al utilizar la bacteria los carbohidratos del medio.

El cultivo común para formas patógenas es el Agar Sangre, debido a que éstas tiene requerimientos nutricionales más estrictos y por ello requieren varios factores de crecimiento adicionales tales como rivoflavina, glutamina, ácido pantoténico, piridoxina, ácido nicotínico y biotina, junto con 13 ó 14 aminoácidos más. El crecimiento es estimulado netamente por la adición de péptidos y/o derivados de ácidos nucleícos.

Los cultivos pueden incubarse en atmósfera aeróbica no obstante el crecimiento y la hemólisis se incrementan con el suministro de CO_2 10%.

Las diversas especies del género STREPTOCOCCUS tienen un amplio margen de temperatura de crecimiento, lo cual es una característica diferencial importante, ya que las especies patógenas a humanos y animales

se desarrollan a una temperatura de crecimiento cercana a los 37°C, -- las del grupo Láctico desarrollam entre los 10 y 37°C, mientras que los Enterococos desde los 10°C hasta temperaturas por rncima de los 45°C.

En placas de Agar Sangre despues de 24 a 48 horas de incuabción - las colonias suelen hacerse visibles, siendo éstas pequeñas, grisáceas - y opalescentes, con bordes lisos o muy ligeramente rugosos lo que hace - que sobre la superficie del medio tengan aspecto de gotitas de líquido.

Clasificación.

Debido a que los Estreptococos forman un grupo amplio y bastante homogeneo de bacterias se hizo necesario tener una clasificación que permitiera el estudio e identificacfón de éstas en forma adecuada!

Asf los Estreptococos fueron clasificados de diversas formas,basandose cada una en diferentes propiedades; su acción hemolítica, sus propiedades metabólicas y actividad fisológica y por aua reacciones serológicas de aglutinación y precipitación.

Según su acción hemolítica : Propuestas por Brawn todos los Estreptococos pueden distribuirse en uno de tres tipos Alfa, Beta o Gamma diferenciados por su acción lítica sobre el Agar Sangre en placas incubadas de 24 a 48 horas a 37°C.

a).- Alfa hemolíticos (α): Conocidos como Estreptococos verdes o grupo Viridans, son aquellos que producen una zona verdosa de hemólisis alrededor de la colonia debido a la dstrucción parcial de eritrocitos.

b).- Beta hemolíticos (β): Antes conocidos como Grupo Piógeno son aquellos que producen una zona clara e incolora de hemólisis alrededor de la colonia debida a la destrucción total de eritrocitos por una hemolisina secretada por el Estreptococo.

c).- Gamma hemolíticos (γ): Tambien Estreptococos no hemolítico ó indiferentes, son aquellos cuyo crecimiento no provoca alteración alguna en el medio.

Según la clasificación en base a sus propiedades metabólicas y actividad fisológica, también llamada clasificación académica, los Estreptococos pueden dividirse en cuatro grandes grupos:

a).- Grupo Piógeno: Incluye Streptococcus pyogenes y otras cepas Beta-hemolíticas y no hemolíticas causantes de enfermedades agudas y mortales.

b).- Grupo Viridans: Incluye cepas Alfa-hemolíticas y no-hemolíticas agentes de infecciones tipo crónico, no mortales y de las endocarditis subagudas.

c).- Grupo Enterococo: Incluye a Streptococcus lactis y Streptococcus cremoris no patógenos pero de gran importancia industrial.

La clasificación Serológica, clasificación de Lancefield, se basa en la presencia de un antígeno específico de grupo y especie en los Estreptococos hemolíticos. Mediante la extracción de antígenos solubles y pruebas de precipitación Lancefield clasificó a los Estreptococos en 13 grupos, cada uno designado con úna letra de la A a la O con excepción de la I y la J, considerandose de mayor importancia médica los cuatro primeros.

El antígeno de grupo es parte de la pared celular y de naturaleza polisacárida llamado Substancia C, los tipo específico son unas proteínas (M y T) y otros polisacáridos (S).

Todos los miembros de un grupo comparten el mismo antígeno específico de grupo, como en el caso del Grupo "C" de Lancefield, que squí nos ocupa, en el que sus cuatro especies Streptococcus equi, Streptococcus equisimilis, Streptococcus zooepidémicus, Streptococcus dysgalactie comparten como antígeno específico de grupo la N-acetilgalactosamina.

Estructura Antigénica.

El género Streptococcus posee una estructura antigénica que podría dividirse para su estudio de la siguiente forma:

1.- Cápsula: Esta estructura generalmente solo se encuentra en los Estreptococos del Grupo "A" y cepas del Grupo "C", es facilmente demostrable en cultivos jovenes, y se considera tiene acción antifagocitaria. Dicha estructura capsular está constituida de ácido hialurónico, no es inmunogénica debido a que su estructura química no puede distinguirse del haluronato presente en la sustancia intersticial del tejido conjuntivo.

2.- Pared Celular: Se encuentra constituída de proteínas (Antígenos M,T,R), Carbohidratos específicos de grupo (Substancia C) y peptidoglicanos.

a).- Antígenos M: De naturaleza proteíca, situados en la superficie celular bajo la forma de una serie de proyecciones semejantes a pelos, probablemente de naturaleza fímbrica. La proteína M interfiere con la ingestión de Estreptococos por células fagocitarias y se relaciona estrechamente con la virulencia de éstos!

Los Estreptococos de un grupo pueden dividirse en varios tipos inmunológicos, los cuales difieren en los antígenos proteícos M, así el Grupo "A" se ha dividido en más de 55 tipos diferentes, el Grupo "B" en 3 tipos y en el Grupo "C" cada especie se tipifica serológicamente en e-

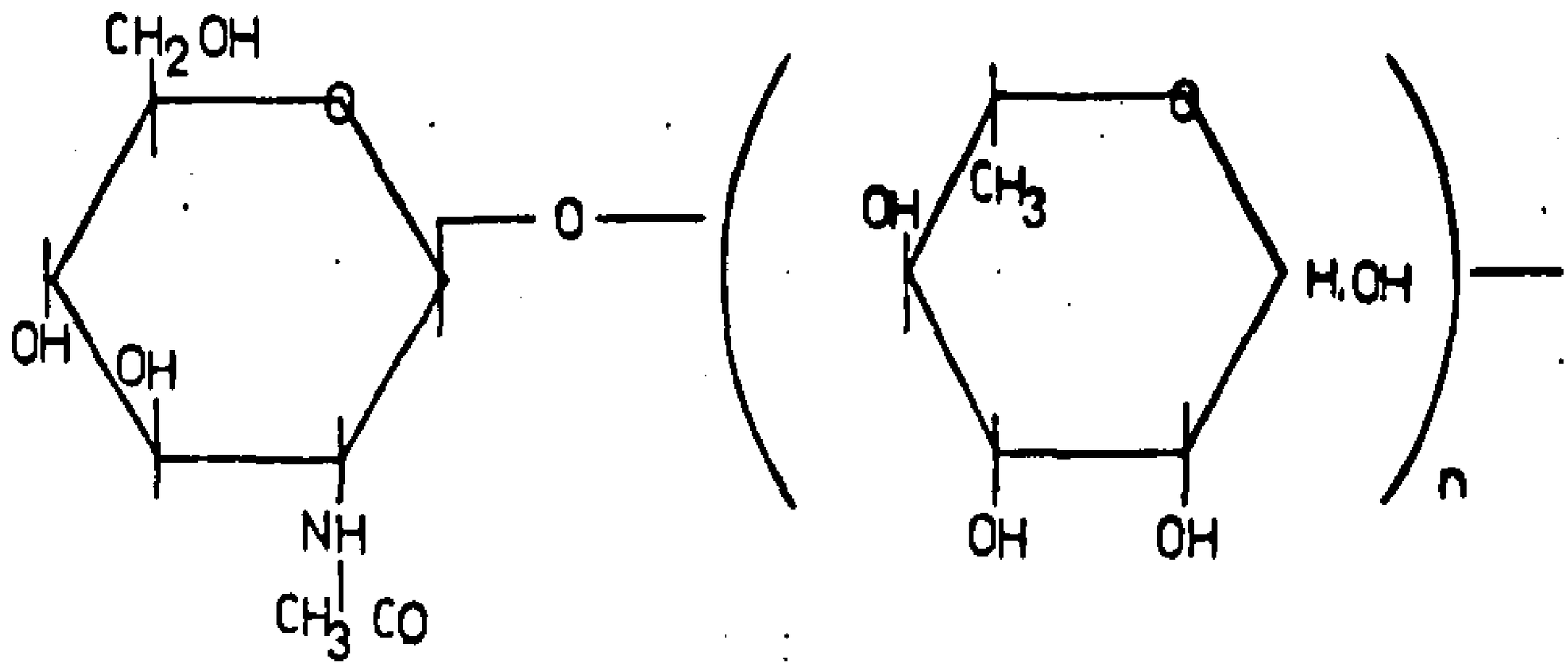
varios serotipos, Streptococcus equisimilis en 8, Streptococcus zooepidémicus en 8, Streptococcus equi en uno .

b).- Antígeno T: Es una serie de proteínas inmunologicamente distintas, resistentes a enzimas proteolíticas como pepsina y la tripsina a diferencia del antígeno M del cual es completamente independiente. Este antígeno no guarda realación con la virulencia del Estreptococo y actúa como antígeno de superficie.

c).- Antígeno R: Es antígeno de superficie, proteína resistente a la digestión péptica pero no resistente a la tripsina lo que lo diferencia de los antes mencionados. Hasta el momento se han identificado dos proteínas R inmunologicamente distintas.

d).- Sustancia C: Como fué mencionado se considera Antígeno Grupo Específico, es de naturaleza polisacárida y es compartido por todos los miembros de un mismo grupo. Constituye aproximadamente el 10% del peso seco del microorganismo. En su constitución la Ramnosa parece se un componente común en todos los antígenos de grupo estudiados ya que solo se ha demostrado su ausencia en el Grupo "O".

La especificidad serológica del carbohidrato C es determinada por un amino-azúcar, así para el Grupo "A" es la Ramnosa-N-acetilglucosamina y para el Grupo "C" la Ramnosa-N-acetilgalactosamina. La figura 2.1 muestra el esquema de dichos determinantes antigénicos.



N- acetilglucosamina

N- acetil galactosamina

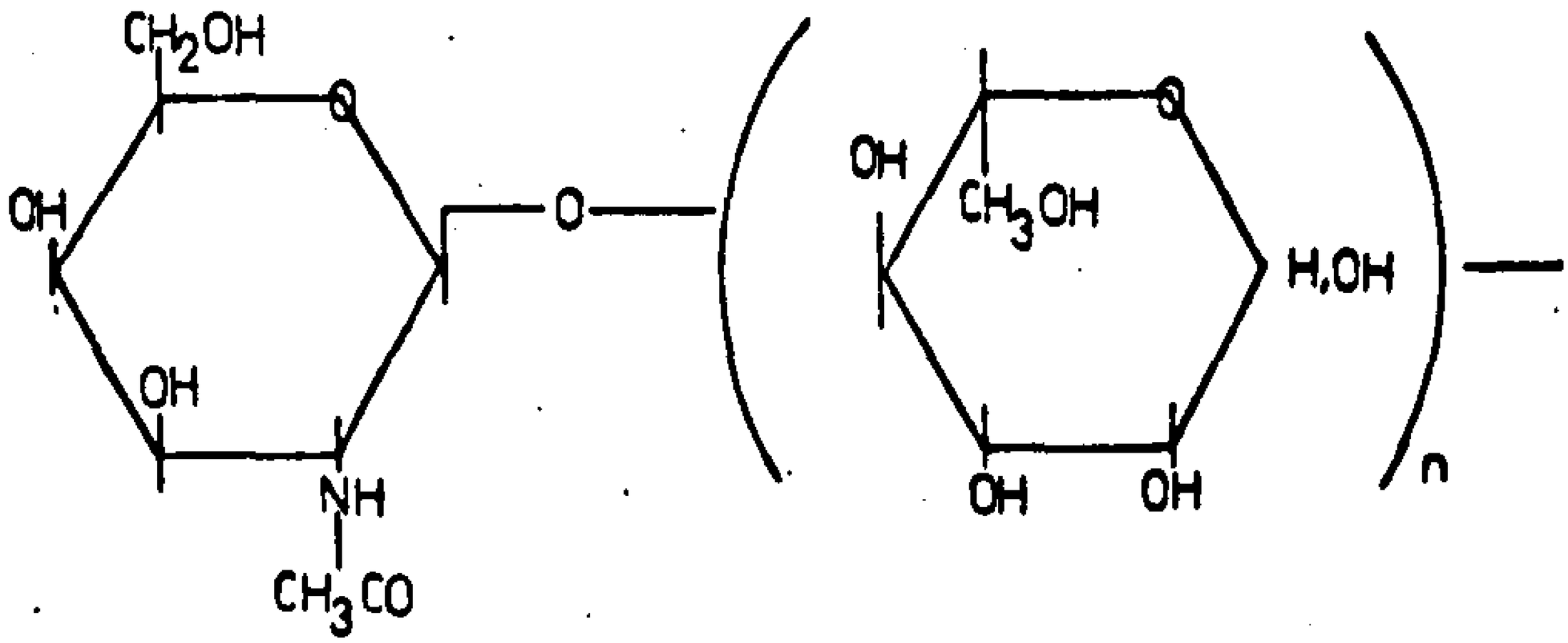


FIG. 21

Metabolitos Extracelulares.

La gran variedad de prosesos patológicos producidos por Estrepto-cocos hemolíticos en le hombre está en relación con el elevado número de productos extracelulares que estos organismos son capaces de crear.

La Estreptocinasa es un activador plasmático que cataliza la con-versión de plasminógeno es plasmina en la disolución de coagulos de fi-brina. Es producida activamente por Estreptococos del Grupo "A" y "C" y-escasamente por los del Grupo "G".. Es una proteína inmunogénica que in-duce la formación de anticuerpos antiestreptocinasa en la mayor parte -- de enfermedades causadas por Estreptococos.

Lisa coagulos de fibrina de sangre del animal del cual proviene - el Estreptococo.

Estreptocinasa del: Grupo "A" ---------Coagulos de humano.

Grupo "B" ---------Coagulos de bovino

Grupo "C" ---------Coagulos de humano y animales.

Algunas cepas del Grupo "C" la producen en grandes cantidades de-aquí es de donde se obtiene con fines terapéuticos.

Otro de estos metabolitos es la Toxina Eritrogénica de la cual - se conocen tres tipos inmunologicamente distintos, el tipo A, B, C, los cuales son producidos por cepas lisogénicas del los Grupos "A, "C" y "G" de Lancefield.

Son responsables del exantema que se presenta en la Escarlatina - por lo tanto solo las cepas productoras de toxina son capaces de ocacionar dicha enfermedad.

La toxian eritrogénica es inmunogénica, provoca la formación de una antitoxina específica la cual neutraliza la toxina, aquellas personas que poseen antitoxina circulando son inmunes al eritema más no a la infección.

Los Estreptococos hemolíticos de los Grupos "A, "C" y "G" producen dos tipos de hemolisinas filtrables las Estreptolisinas O y S.

La Estreptolisina O es una proteína oxígeno fábil la cual tiene actividad hemolítica en estado reducido ó sea cuando cuenta con grupos - sulfihidrilos disponibles.

Tiene estrecha relación con la virulencia de los Estreptococos debido a que lisa eritrocitos y leucocitos además de ser tóxica para varias células y de tener un efevto cardiotóxico específico.

Es antigénica por lo que induce la formación de anticuerpos antiestrptolisina O que neutralizan su toxicidad y actividad hemolítica.

Estreptolisina S, es una hemolisina de bajo peso molecular, difusible en suero, capaz de formar complejo con transportadores macromoleculares como la albumina, a diferencia de la anteíior es oxígeno estable, de naturaleza hapténica, no inmunogénica.y su actividad hemolítica es solo sobre eritrocitos.

Diferenciación Fisiológica.

En el estudio de una bacteria en general antes que nada es necesario obtener un cultivo puro de la misma, libre de todo microorganismo no deseado.

Generalmente el aislamiento de Estreptococos en una muestra de material patológico no es difícil, Se requiere un medio enriquecido, el Agar Sangre es el de elección para observar los tipos de hemólisi, además se cuenta con varios medios selectivos como Agar Sangre y Azida de Sodio, Caldo Pike y el Agar Estreptocel con Azida y Dextrosa.

Una vez que se obtiene el aislamiento del microorganismo este puede clasificarse por el método de precipitación de Lancefield, inmunofluorecencia, otros métodos inmunológicos ó por el método bacteriológico fundamentado en su actividd bioquímica.

El método de Lancefield se basa en la extracción del antígrno específico de grupo que se hace precipitar con antisueros estreptocóccicos específicos para cada grupo.

La inmunofluorecencia es utilizando anticuerpos fluorecentes, es muy recomendado para la clasificación del Grupo "A" ya que no preseta reacciones cruzadas.

El método bacteriológico como ya mencionamos se basa en la actividad bioquímica de los microorganismos. En el caso de los Estreptococos hay un cuadro básico de preubas que permite la diferenciación de los grupos considerados de mayor importancia médica..

1.- Reacción hemolítica: Para distinguir el tipos de hemólisis, alfa, beta ó gamma.

2.- Sensibilidad a Bacitracina: Distintiva del Grupo "A".

3.- Prueba de CAmp: En la cual cepas del Grupo "B" presentan reacción característica.

4.- Tolerancia a la Sal: Distingue a los miembros del Grupo "D".

5.- Solubilidad en Bills: Prueba que permite diferenciar a los Estreptococos alfa-hemolíticos del Neumococo.

En el caso del GRupo "C" no hay una prueba determinada que lo identifique, es por eso que frecuentemente cuando este cuadro indica que no es Grupo "A", "B" ó "D" se clasifica como Grupo "C".

La identificación de las cuatro especies del Grupo "C" Streptococcus equisimilis, Streptococcus equi, Streptococcus zooepidémicus, Streptococcus dysgalactiae se basa en su capacidad fermentativa del glicerol-

sorbito, trealosa, lactos. En el cuadro 2.1 se muestran las pruebas utilizadas en el presente trabajo y los resultados esperados en la identificación!

Cuadro 2.1

IDENTIFICACION DE ESTREPTOCOCOS GRUPO "C" EN SUS CUATRO ESPECIES

	S.equisimilis.	S.equi	S. zooepidémicus	S.dysgalactie.
Hemólisis	Beta	Beta	Beta	Beta ó Alfa
Sensibilidad a Bacitracina	R	R	R	R
Factor Camp	(-)	(-)	(-)	(-)
NaCl al 6.5%	NC	NC	NC	NC
Bilis al 40%	NC	NC	NC	NC
Glicerol	(+)	(-)	(-)	(-)
Sorbitol	(-)	(-)	(+)	(±)
Trealosa	(+)	(-)	(-)	(+)
Lactosa	(±)	(-)	(±)	(±)
Rafinosa	(-)	(-)	(-)	(-)

R=resistente.
NC= no crecimiento.

Sensibilidad a la Bacitracina

Es de gran ayuda en la identificación de las cepas pertenecientes al Grupo "A" de Lancefield ya que estas son fuertemente sensibles a una concetración de 0.04 UI de Bacitracina, concentración que no inhibe la mayor parte de cepas de otros grupos.

Prueba de Camp.

Muy útil en la identificación del Grupo "B" ya que los Estreptococos de este grupos producen un factor (Factor Camp) que es un producto extracelular, termoestable y difusible que actúa sinergeticamente con la Beta-lisina del Staphylococcus aureus en contra de los eritrocitos de carnero contenidos en el medio de Agar Sangre. Esta Beta-lisina tiene actividad fosfolipasa que hidroliza la esfingomielina que se encuentra en la membrana de los eritrocitos.

Tolerancia a la Sal.

Utilizada en la identificación de los Estreptococos del Grupo "D" ya que estos tienen la característica de desarrollar en un medio que contenga una concentración de 6.5% de Cloruro de Sodio a diferencia de otros grupos.

Tolerancia a la Bilis.

Se basa en el desarrollo que muestran alguna cepas del Grupo "D"

y otros saprófitos como Streptococcus sanguis y Streptococcus salivarius en un medio qué contiene el 40% de Bilis.

Fermentación de Carbohidratos.

Determina la habilidad de un organismo para fermentar o degradar un carbohidrato específico incorporado a un medio base.

La capacidad de las bacterias para fermentar diversos carbohidratos es muy variable, dependiendo basicamente de las enzimas de que estén dotadas para actuar sobre los distintos hidratos de carbono. Algunas bacterias pueden atacar uno ó más carbohidratos y producir ácidos pero no gas, y hay bacterias que no fermentan ningún carbohidrato.

Patogenicidad.

Los Estreptococos están muy difundidos e indudablemente causan -- mayor diversidad de tipos clínicos de enfermedad que cualquier otro mi-- croorganismo. Pueden originar enfermedad en todos los órganos y tejidos- del cuerpo, en forma análoga a los Estafilococos, con los cuales se pue- den presentar en infecciones mixtas.

Los Estreptococos hemolíticos son principalmente invasores secun- darios sobrepuestos a otras enfermedades bacterianas y en particular --- por virus.

La mayor parte de los individuos aparentemente normales llevan -- Estreptococos hemolíticos en la garganta. En hacinamientos , especialmen te en invierno cuando el virus del catarro es común la proporción de --- portadores aumenta. El portador nasal es una fuente importantísima de -- diseminación.

Son transmitidos de persona a persona por contacto directo o por objetos contaminados, gotillas, manos e instrumentos quirúrgicos. Usual- mente penetran al organismo por el tracto respiratorio o a través de he- ridas o lesiones de la piel.

Durante mucho tiempo se ha considerado al Streptococcus pyogenes- (Grupo "A") como el causante de las enfermedades estreptocóccicas en -- el humano, sin embargo en la actualidad se han aislado Estreptococos del Grupo "C" principalmente Streptococcus equisimilis como causantes de -- estas enfermedades.

Como fué mencionado antes la estructura antigénica y los metabo-- litos extracelulares de ambos grupos son similares por lo tanto es de es perarse que los procesos patológicos causados por ambos grupos no puedan distinguirse clinicamente, excepto por el aislamiento e identificación - del agente causal.

Las enfermedades causadas por los Estreptococos del Grupo "C" se- pueden dividir en dos grupos, las supurativas y las no supurativas.En--- tre las primeras encontramos Amigdalitis, Neumonía, Otitis Media, Adeni- tis Cervical, Celulitis, Sepsis Puerperal, Bacteremias, entre las no su- purativas Endocarditis Bacteriana y Artritis.

Por otra parte las especies del Grupo "C" son altamente patógenas para animales domésticos y de importancia agrícola.

Streptococcus equi: Causa estrangulamiento en caballose inflama- ción mucopurulenta de la mucosa respiratoria.

Streptococcus dysgalactie:= Agente causal de mastitis en bovinos; causa frecuente de contaminación en la leche.

Streptococcus equisimilis: Causa septicemia y artritis supura--- tiva en cerdos jóvenes.

Streotococcus zooepidémicus: Nasofaringitis y Neumonía en caba-- llos.

Otros animales que pueden ser afectados son: ovejas, perros, zo-- rros y aves de corral.

Por su carácter doméstico y frecuente contacto con las personas- los animales colonizados o infectados por Estreptococos del Grupo "C" son reservorios potencial de enfermedades para el humano.

MATERIAL Y METODOS.

Para la realización del presente trabajo se tomaron cien muestras de exudado faríngeo en jóvenes estudiantes que practican deportes en campos de tierra suelta . La práctica de deportes en terrenos no adecuados tiene como consecuencia la inevitable inhalación de polvo constantemente, lo que constituye un importante factor predisponente para el desarrollo de una Amigdalitis o infección de vías respiratorias.

Las muestras fueron tomadas por medio de hisopos de algodón estériles, frotándolos en la parte posterior de la nasofaringe evitando tocar mejillas, úvula y contaminación por saliva. Las muestras siempre se obtuvieron cuando los jóvenes terminaban de un entreenamiento de dos horas en campos de tierra suelta.

En cada toma se utilizaron don hisopos simultaneamente, uno de los cuales fué utilizado para la preparación de frotis que se tiñó por la técnica de Gram con el fín de observar flora bacteriana y celularidad de la nasofaringe.

Con el otro hisopo se hicieron inoculaciones de placas de Agar Sangre con Azida y Agar Estreptocel simultaneamente, las cuales fueron transladadas al laboratorio inmediatamente.

En el laboratorio ambas placas fueron sembradas por la técnica de aislamiento por estrías e incubadas en atmosfera de 10% de CO_2, durante 48 horas.

Los medios utilizados son selectivos para el crecimiento de Es--- treptococos ya que ambos tienen en su composición azida de sodio que sirve como inhibidor de otros microorganismos.

En el Agar Estreptocel los Estreptococos dan colonias pequeñas -- redondas, de bordes continuos, ligeramente convexas y transparentes. --- Mientras que en el Agar Sangre dan colonias pequeñas, redondas y con --- cierto brillo que les dá, la apariencia de gotitas de líquido sobre la - superficie del medio, además este medio permite apreciar la hemólisis -- producida por las colonias que es de gran ayuda en la identificación.

El término del período de incubación de las placas se observó el- desarrollo presente en ellas. En el Agar Estreptocel a las colonias sos- pechosas se les hizo la prueba de Catalasa con el fín de identificarlas- como pertenecientes al género Streptococcus (Catalasa negativos).

En el Agar Sangre se hizo la observación de la hemólisis producida por las colonias para detectar a las que fueran alfa y beta-hemolíticas, ya que en el Grupo "C" la especie Streptococcus dysgalactie es al-- fa-hemolítica y las otras tres son beta-hemolíticas.

De estas colonias se hizo la preparación de frotis que se tiñeron- al Gram para observar en ellos la morfología, agrupación y respuesta al Gram de los microorganismos presentes.

Sobre estas colonias se hicieron las pruebas bioquímicas que permitieron su clasificación, seleccionadas en base a la bibliografía adecuada y disponibilidad de reactivos. Así las pruebas escogidas fueron las siguientes:

1.- Sensibilidad a la Bacitracina.

2.- Prueba de Camp.

3.- Tolerancia a la Sal.

4.- Tolerancia a la Bilis.

5.- Fermentación de Carbohidratos: Glicerol, lactosa sorbitol, trealosa, ramnosa.

Los procedimientos para la aplicación de las pruebas se dan a continuación:

Sensibilidad a la Bacitracina.

Para la prueba se requiere del siguiente material:

1).- Placas de Base Agar Sangre, adicionadas con sangre de carnero desfibrinada al 5%.

2).- Discos de Diferenciación de Bacitracina de 0.4 U de concentración.

3).- Cepa Problema, ésta debe de ser Beta-hemolítica ya que esta prueba se utiliza para la identificación de éstos.

Se procede de la siguiente manera: La cepa a probar se inocula en la placa de Agar, Sangre, sobre esta se coloca acépticamente el disco-

de diferenciación de Bacitracina, se incuba por 24 horas a 37 grados --- centígrados.

Después del período de incubación se realiza la lectura, si la -- cepa es sensible al antibiótico se observa un halo de inhibición del cre cimiento alrededór del disco, si la cepa es persistente se verá creci--- miento normal desde los márgenes del disco.

Prueba de Camp.

Material utilizado:

1.- Placas de Agar Sangre base adicionado comsangre de carnero - desfibrinada al 5%.

2.- Cultivo puro de Staphylococcus aureus Productor de beta-lisi- na.

3.- Cepa problema de Streptococcus sp.

Procedimiento: Se toma una porción abundante del cultivo de Es-- tafilococo y se inocula en el centro dela placa de Agar Sangre en es---- trías rectas, en forma perpendicular y dela misma manera se siembra la- cepa problema dejando un espacio no menor de medio centímetro entre am-- bas inoculaciones.

Las placas se incuban a 37 grados centígrados en una atmósfera -- de 10% de CO 2 que puede obtenerse en frasco con bujía.

Se debe hacer una primera lectura a las 5 ó 6 horas de incubación si los resultados son negarivos se continúa a 18 horas. La prueba será - positiva cuando el punto confluente de las hemólisis se acentúe y dé el- aspecto de punta de flecha.

Prueba de Tolerancia a la Sal.

La prueba de tolerancia a la sal requiere de la utilizaci'on de un medio reactivo a base de caldo infusión de corazón, glucosa, púrpura de bromocresol como indicador y cloruro de sodio al 6.5%. El medio debe incubarse por 24 horas a 37 grados centígrados.

La prueba se interpreta como positiva sí el medio presenta un color amarillento turbio que es producido al virar el indicador por la presencia de ácido por el desdoblamiento de glucosa.

Prueba de Tolerancia a la Bilis.

Para esta prueba se utiliza el medio de Agar con Bilis y Verde - Brillante cuya composición es bilis de buey, peptona, cloruro de sodio-- lactosa, sacarosa y verde brillante. Para la prueba hay dos modalidades- una en que la concentración de bilis es al 10% y otra al 40%, utilizadas según la tolerancia que se quiera probar.

Los medios inoculados se incuban a 37 grados centígrados por 24 - horas en atmósfera normal o con 10% de CO_2. La prueba es positiva si -- el medio presenta crecimiento.

Prueba de Fermentación de Carbohidratos.

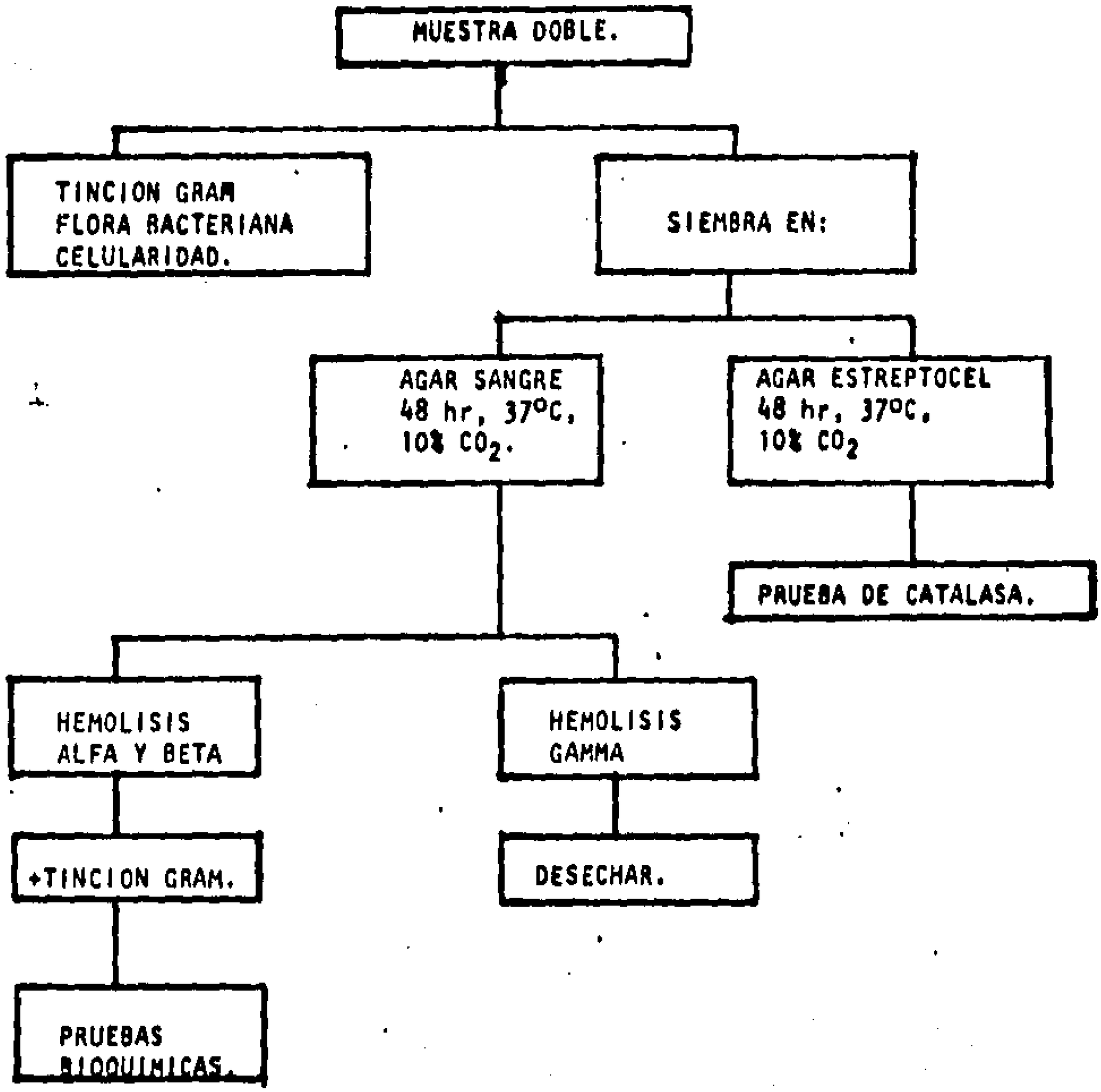
Se utiliza el Caldo Base con Rojo de Fenol que es un medio líquido al que se pueden agregar hidratos de carbonopara determinar con exactitud las reacciones de fermentación.

La composición del Caldo Base es tripticase, cloruro de sodio, - rojo de fenol como indicador, a esta base sele adiciona del 0.5% al 1% - de substancias reaccionantes: azúcares, alcoholes, glicósidos.

Los medios inoculados se incuban por 24 horas a 37 grados centígrados en atmósfera normal o con el 10% de CO_2. La prueba es positiva cuando en el medio hay un viraje del indicador hacia el amarillo, color debido a la acidez producida por el medio por la utilización del carbohidrato por la bacteria, y es negativa cuando el indicador vira hacia el rosa debido a la alcalinidad del medio.

En el presente trabajo las rpuebas se incubaron en atmósfera de 10% de CO_2 durante 48 horas ya que durante la marcha se encontró que las cepas pertenecientes al Grupo "C" con 24 horas de incubación no dan reacciones francas, y para una correcta lectura se requieren 48 horas.

ESQUEMA DEL ESTUDIO REALIZADO.



R E S U L T A D O S.

RESULTADOS.

El estudio fué realizado en cien muestras obtenidas de exudado - faríngeo en jóvenes estudiantes, cuyas edades se encuentran entre los -- dieciocho y veinticuatro años. Todos estos jóvenes reportaron tener mo-- lestias faríngeas a partir de haber empezado a practicar en los campos - de tierra suelta.

En la observación de las siembras hechas en el medio de Agar San- gre se aislaron veinticuatro cepas productoras de Beta-hemólisis, lo --- que nos indica que el 24% de la población en estudio era portadora de Es treptococos beta-hemolíticos en el momento de la toma. A estas cepas se- les hicieron pruebas bioquímicas para su clasificación de donde se obtu- vieron once cepas pertenecientes al Grupo "A", dos al Grupo "B" y once - al Grupo "C". De las del Grupo "C" se identificaron un Streptococcus -- zooepidémicus, seis Streptococcus equi y cuatro Streptococcus equisimi-- lis.

Las cepas alfa-hemolíticas se sometieron a pruebas de identifica- ción con la finalidad de identificar al Streptococcus dysgalactie, pero- los resultados para éste fueron negativos.

Cabe mencionar que en el presente trabajo el objetivo era la iden tificación de las especies de Estreptococos pertenecientes al Grupo "C"- así tomando en cuenta esto y las edades de los jóvenes en estudio se -- encontró la siguiente distibución: En el grupo de 18 a 20 años un porce

taje de 1% de Streptococcus zooepidémicus, 3% de Streptococcus equisimilis y 2% de Streptococcus equi; el grupo de 21 y 22 años el Streptococcus equi en un 3% y Streptococcus equisimilis 1%; entre los jovenes de 23 a 24 años se encontró un 1% de Streptococcus equi.

Los resultados obtenidos y las distribuciones en los grupos de edades se esquematizan en el cuadro 4.2 y figura 4.1 de este capítulo. Aclaramos que la distribución por edades solo se debe a una manera de ejmplificar los datos..

Cuadro 4.1. DIFERENCIACION DE LAS CEPAS BETA-HEMOLITICAS AISLADAS.

	S. pyogenes	S.agalactie.	S.equi	S.equisimilis.	S.zooepidémicus.
Hemolisis	Beta	Beta	Beta	Beta	Beta
Bacitracina	S	R	R	R	R
Prueba de Camp.	-	+	-	-	-
Tolerancia a la sal.	NC	NC	NC	NC	NC
Tolerancia a Bilis.	NC	NC	NC	NC	NC
Glicerol	-	-	-	+	+
Sorbitol	-	-	-	-	+
Trealosa	+	+	-	+	-
Lactosa	+	+	-	+	+
Rafinosa	-	-	-	-	-

S=sensible

R=resistente.

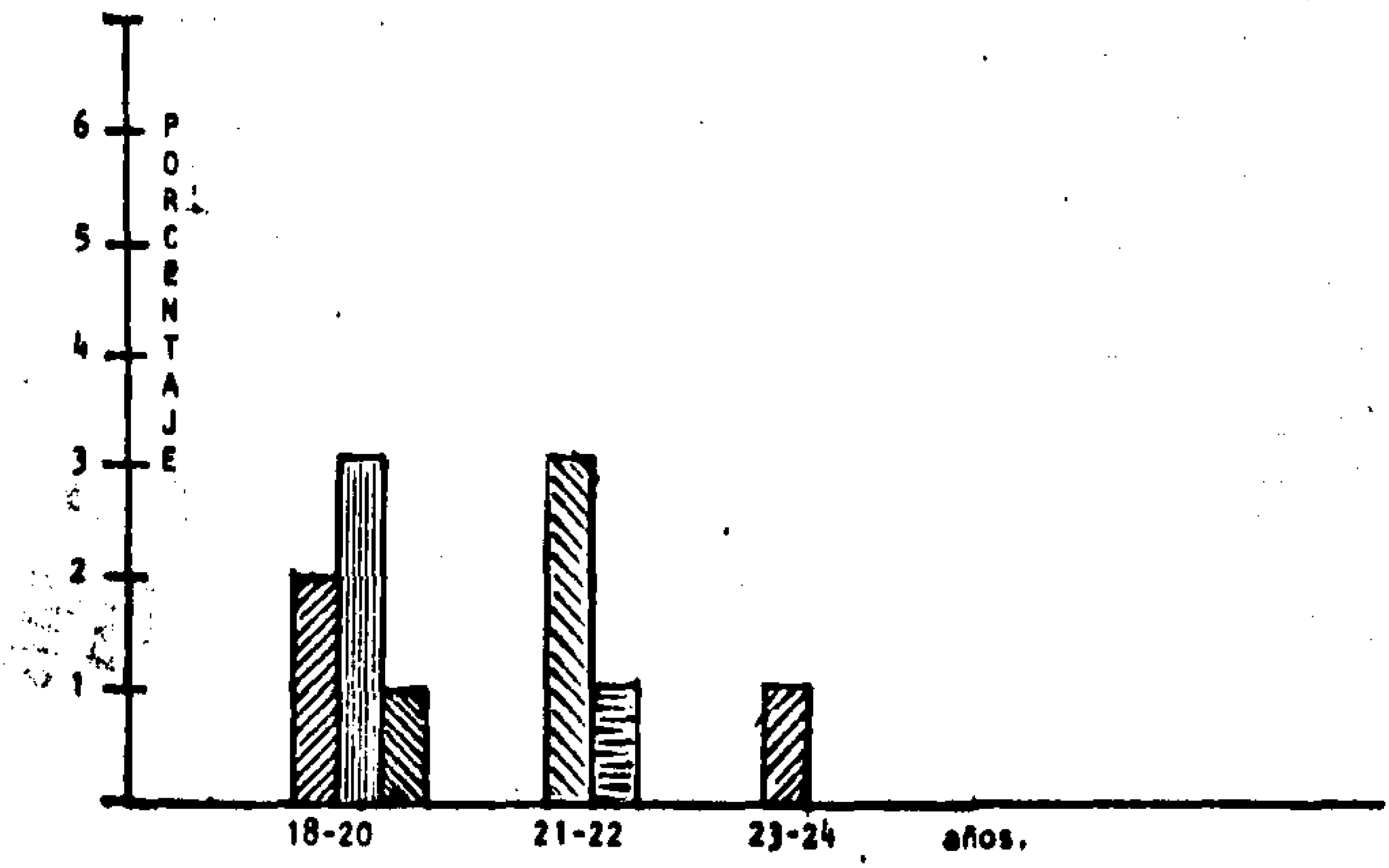
NC=no crecimiento.

Cuadro 4.2. DISTRIBUCION DE RESULTADOS EN GRUPOS DE EDAD.

AISLAMIENTO.	EDAD			TOTAL EN %.
	18-20	21-22	23-24	
S. equi	2	3	1	6
S. equisimilis.	3	1	1	4
S. zooepidémicus	1	-	-	1

Figura 4.1.

FRECUENCIA DE PORTADORES DE ESTREPTOCOCOS GRUPO C POR EDADES.



a= Streptococcus equi
b= Streptococcus equisimilis.
c= Streptococcus zooepidémicus.

C O N C L U S I O N E S.

CONCLUSIONES.

En la bibliografía consultada encontramos que hay estudios en --- que se afirma que la frecuencia del Estreptococo beta-hemolítico es mayor en niños, y en este estudio obtuvimos un alto porcentaje de portadores de este tipo de Estreptococos en jóvenes, por lo que podemos concluir que el hecho de que estos jóvenes practiquen deportes en campos de tierra e inhalen grandes cantidades de polvo durante dos ó mas horas consecutivas constituye un verdadero factor predisponente para el desarrollo de amigdalitis, faringitis e infecciones de vías respiratorias.

Generalmente se da importancia clínica a una infección ocasionada por Streptococcus pyogenes pero en este estudio encontramos una frecuencia igual tanto de Estreptococos Grupo "A" como Grupo "C", además como mencionamos comparten semejanza en cuanto a estrucura antígénica y patogenicidad por lo que se debería dar igual importancia médica a los dos.

Debido a la poca importancia que se le ha dado hasta hace poco a los Estreptococos del Grupo "C" no se encontró en bibliografía un método adecuado que permitiera su identificación, ya que generalmente en los estudios realizados si no se identifican como Grupo "A", "B" ó "D" se reportan como "C", pero esto puede traer errores de identificación ya que por ejemplo con respecto al Grupo "A" su diferenciación se base en la prueba de sensibilidad a bacitracina sin considerar que algunas cepas del Grupo "C" pueden presentar dicha sensibilidad. En base a esto se re-

comendaría que en el laboratorio se llegara a la plena identificación de este grupo de Estreptococos, lo que representaría una gran ayuda para el médico y para el tratamiento del paciente.

Con respecto a la negatividad de los resultados en el aislamiento del Streptococcus dysgalactie se revisaron los estudios realizados anteriormente encontrándose que esto concuerda ya que nunca se ha reportado el aislamiento de este Estreptococo en el humano, considerandose patógeno de animales inferiores.

BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA.

1.- D. Portnoy, I. Wink, G.K. Richardas, M.Z. Blanc. Bacterial-endocarditis due to a penicillin-tolerant group C streptococcus. CMA Journal. 122(1): 69-70. Jan 1980.

2.- Harold D. Rose, James R. Allen, Gerardi Witte. Streptococcus zooepidemicus (Group C) Pneumonia in a Human. Journal of Clinical Microbiology. 11(1): 76-78. JAn 1980.

3.- Donald E. Low, Mark R. Young, Godfrey K?M. Harding. Group C - Streptococal Meningitis in an Adult. Arch Med. 140: 977-978. July 1980.

4.- Vincent A. Filginiti, John Ey. Kenneth, J. Ryan. Recurrent -- Group C Streptococal Tonsilitis in an Adoloscent Male Requiring Tonci-- llectomy, Clinical Pediatrics. 19(12) 829-830. Dec 1980.

5.- Gary Hanson, Peter J. Engel. Purulent Pericarditis Caused by- Beta-Hemlitic Grep C Streptococcus. Arch Intern Med. 141: 1351-1352. -- Sept 1981.

6.- M.K. Davies, M.A. Ireland, D.B. Clarke. Infective endocardi-- tis from group C streptococci causing stenosis of both the aortic and mitral valves. Thorax. 36(1): 69-71. Jan 1891.

7.- Alan M. Stamm, C. Glenn Cobbs. Group C Streptococcal Pneumonia: Repor5
of a Fatal Case and Review of tha Literatura. Reviewsof Infections Diseases. 2(6): 889-896. November-December 1980.

8.- A.T.M. Ghonein, E. Mary Cooke,. Serius Infection caused by -- group C streptococi. Journal Clinical Pathology. 33(2): 188-190. Feb1980

9.- Peter C. Appelbaum, Bahu S. Shaikh, A. Gordon, Elizabeth J. - Hallgren. Septicemia due to Streptococcus equsimilis in a child with --- acute Lymphoblastic Leukemia. Cancer. 44(4): 1226-1227. Oct 1979.

10.- C.G. Cumming, P.W. Rose, H. Lough. Optimal methods for the - isolation of groups A,B,C and G streptococci. The Journal of laryngology and and Otology. 95:377-384. April 1981.

11.- Erling B. Myhre, Goran Kronvall. Demonstration of a New Type of Inmunoglobulin G Receptor in Streptococcus zooepidemicus Strains. Infection and Inmunity. 27(3): 977-978. Jul 1980.

12.- Maurice E. Hamilton, Robert S. Gibson. Group C Streptococcal Arthritis. New York State Journal of Medicine. 1746-1747. Oct 1980.

13.- Richard R. Facklam. Aislamiento e identificaci"on de Estreptococos. Manual de Procedimientos, Sección de Estafilococos y Estreptococos. Centro para el control de Enfemedades, Atlanta Georgia.

14.- Jean F. Mac Faddin. Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria. Waverly Press, Inc. Baltimore Md. USA. 1980.

15.- Ernest Jawetz, Joseph L. Leinick, Edward A. Adelberg. Manual de Microbiología Médica. El Manual Moderno. México D.F. 1980.

16.- Bernard D. Davis, Renato Dulbecco, Herman N. Bisen, Harold S Ginsberg. Tratado de Microbiología. Salvat Editores. Barcelona España. 1 1976.

17.- B.A. Freeman. Tratado de Microbiología de Burrowa, Editorial Interamericana. México D.F. 1983.

copi•offset
•xpr•ss
AV. MEXICO No. 2210
Casi Esquina Con América
Tel. 19-19-68
GUADALAJARA, JAL.
COPIAS TESIS
TRANSCRIPCIONES
HELIOGRAFICAS
ENCUADERNACION
ENGARGOLADOS
REDUCCIONES
ENMICADOS
IMPRESIONES DE:
FORMAS INTERNAS
FACTURAS, VOLANTES
HELIOGRAFICAS