

870127

15  
2ej

# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

Incorporada a la Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



FALLA DE ORIGEN

PRIMO AISLAMIENTO SELECTIVO DEL ESTREPTOCOCCO BETA  
HEMOLITICO (GPO. A) IN AGAR SANGRE DE CARNERO  
CONTENIENDO SULFAMETOXAZOL Y TRIMETOPRIM

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA:

**LUIS ISMAEL RIOS MONTOYA**

ASESOR: Q.F.B. MARIA DEL SOCORRO PULIDO GARCIA

GUADALAJARA, JAL., 1988



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## INDICE

### CAPITULO I INTRODUCCION

1.1. Antecedentes históricos.....	2
1.2. Justificación y objetivo del trabajo.....	5

### CAPITULO 2 GENERALIDADES

2.1. Taxonomía y nomenclatura.....	8
2.2. Aspectos microbiológicos.....	24
2.2.1. Morfología.....	24
2.2.2. Caracteres de cultivo.....	26
2.2.3. Caracteres fisiológicos.....	27
2.2.4. Características peculiares del estreptococo del grupo A.....	30
2.2.5. Estructura celular.....	35
2.2.6. Productos extracelulares.....	38
2.2.7. Pruebas específicas para la identificación de estreptococos beta hemolíticos del grupo A.....	49
2.3. Fisiopatogenia y epidemiología de las infecciones - causadas por estreptococos del grupo A.....	52
2.3.1. Fisiopatogenia.....	52
2.4. Epidemiología de las infecciones causadas por es- treptococos del grupo A.....	63

**CAPITULO I**  
**INTRODUCCION**

### 1.1. ANTECEDENTES HISTORICOS.

El género Streptococcus representa un grupo de gérmenes muy diversos, su amplia distribución y su poder patógeno tan variado explican en gran parte las múltiples afecciones de las que son responsables.

Los estreptococos tienen una historia interesante y han causado probablemente más enfermedades humanas a través de los siglos que casi cualquier otra bacteria, con la posible excepción del bacilo tuberculoso. (15)

En la etapa temprana de la historia de la bacteriología, Billroth, en 1874<sup>(15)</sup>, describió por primera vez unos microorganismos esféricos que crecían formando cadenas a partir de exudados purulentos de lesiones de erisipela y heridas infectadas.

Fehleisen en el año de 1883<sup>(22)</sup>, provocó erisipelas típicas en voluntarios humanos con cultivos puros de estreptococos obtenidos a partir de lesiones de pacientes afectados de esta enfermedad. Fue hasta 1884 cuando Rosenbach dio a estos microorganismos el nombre de estreptococos (del griego Streptos, sinuoso, torsionado).

En su afán de investigación los hombres de aquella é-

poca continuaron su trabajo y obtuvieron resultados muy variados. Nocard y Moleraw<sup>(22)</sup> reportaron la producción de mastitis en la vaca y en la cabra por inoculación en la ubre de estreptococos obtenidos de la leche de vaca con esta enfermedad. Schutz en 1887, logró aislar estreptococos de lesiones de equinos con neumonía. Pasteur los llegó a observar en pacientes con sepsis puerperal y Koch en el pus de heridas infectadas. (14)

Estos descubrimientos llevaron al conocimiento de la amplia distribución de los estreptococos en la naturaleza. Fue hasta 1919, cuando Brown<sup>(5)</sup>, introdujo los términos alfa, beta y gama para describir los tres tipos de reacción hemolítica que producían estas bacterias en placas de agar sangre.

En 1933, Rebecca Lancefield<sup>(9)</sup> descubrió que los estreptococos patógenos pueden clasificarse en varios grupos serológicos en base a los antígenos carbohidratados de la pared celular; estos grupos fueron correlacionados, en forma general, con la epidemiología de las enfermedades concernientes. Se reconoce que la mayoría de los estreptococos, con excepción de los neumococos y algunos de los estreptococos saprófitos, poseen estos grupos de antígenos y pueden ser clasificados, por lo menos parcialmente, sobre esta base.

En la actualidad, se sabe que además de las formas pa

tógenas más virulentas hay estreptococos parásitos relativamente inocuos más o menos en forma constante en la garganta y vías intestinales humanas; estos organismos asumen un papel patógeno sólo bajo circunstancias en que la resistencia normal está notoriamente reducida y desde el punto de vista práctico pueden considerarse como participantes de la flora normal del cuerpo humano, además, los podemos encontrar en estado libre en el suelo, agua y aire. (9)

Existen además estreptococos que son patógenos para un determinado huésped, el hombre se dice que es el más susceptible de todos los animales a este tipo de infecciones, (14) siendo el estreptococo beta hemolítico del grupo A el que más frecuentemente lo afecta, como a los bovinos el del grupo E y al caballo el grupo C.

Siendo los estreptococos beta hemolíticos del grupo A los principales patógenos para el hombre, cabe mencionar que pueden causar enfermedades de tipo supurativo como la faringitis estreptocócica, fiebre escarlatina, impétigo y endocarditis como las más importantes, y no supurativas como la glomerulonefritis y fiebre reumática, responsable de secuelas de alto índice de morbi-mortalidad. (23)

## 1.2. JUSTIFICACION Y OBJETIVO DEL TRABAJO.

La búsqueda de un medio más sensible para la recuperación de estreptococos beta hemolíticos del grupo A, sigue -- siendo motivo de innumerables estudios de investigación ya -- que como se mencionó anteriormente, este microorganismo está implicado en una amplia gama de infecciones en el humano.

En su afán por encontrar solución a este problema, -- Bruce A. Gunn, David R. Ohashi, Charlotte A. Gaydos y Edith S. Holt en su trabajo "Selective and Enhanced Recovery of Group A and B Streptococci from Throat cultures with sheep blood -- agar containing Sulfamethoxazole and Trimethoprim" publicado en la revista Journal of Clinical Microbiology de Junio de -- 1977 (págs. 650-655), señalan que este medio selectivo (agar-sangre de carnero con sulfametoxazol y trimetoprim) permite -- una mejor recuperación del estreptococo grupo A y B, supri- -- miendo el crecimiento de la flora normal de orofaringe inclu- -- yendo Streptococcus viridans, facilitando de este modo su pri- -- moaislamiento.

Partiendo de esta hipótesis, he considerado prudente- la realización de un estudio que compruebe lo que señalan es- tos investigadores, ya que de resultar acertado dicho estudio sería de gran provecho implementar en nuestro medio el método que se propone, ya que aparte de facilitar la identificación-

del estreptococo beta hemolítico del grupo A, reduce costos y  
disminuye el tiempo para reportar con certeza dicha bacteria

CAPITULO 2  
GENERALIDADES

## 2.1. TAXONOMIA Y NOMENCLATURA.

La clasificación de los organismos (taxonomía) tiene dos finalidades. Una es puramente descriptiva: agrupar organismos de la misma clase y describir la base para este agrupamiento, de suerte que la información recogida sobre una especie dada pueda ser reunida y comparada. El ordenamiento de las entidades en semejante esquema podría ser entonces cuestión simplemente de conveniencia, con tal de que se alcance una clave determinativa para la aplicación de una sucesión de criterios hasta la descripción correcta de un espécimen desconocido.

La segunda finalidad consiste en proporcionar una clasificación filogenética (natural), en la que los sucesivos taxones (niveles de ordenación) en un árbol familiar jerárquico (especie, género, familia, tribu, orden) apunten hacia líneas de reflexión de la descendencia evolutiva. (5)

En la actualidad, el sistema de clasificación y nomenclatura más aceptado es el del Bergey's of Determinative Bacteriology, octava edición (1974), mismo que se tomó en cuenta para extraer los siguientes datos:

## COCOS GRAM POSITIVOS

## A) Aeróbicos y/o anaeróbicos facultativos

Familia	I. Micrococacceae
Género	I. Micrococcus
Género	II. Staphylococcus
Género	III. Planococcus

Familia	II. Streptococcaceae
Género	I. Streptococcus
Género	II. Leuconostoc
Género	III. Pediococcus
Género	IV. Aerococcus
Género	V. Gemella

## B) Anaeróbicos

Familia	III. Peptococcaceae
Género	I. Peptococcus
Género	II Peptostreptococcus
Género	III. Raminococcus
Género	IV. Sarcina

La diferenciación e identificación de los estreptococos tiene mucha importancia práctica debido a su relación ex-

tiológica con muchas enfermedades difundidas ampliamente en el hombre y animales domésticos, y de igual importancia teórica. La clasificación ha sido y continúa siendo un aspecto -- particularmente difícil, ya que ni los métodos fisiológicos -- ni los inmunológicos han resultado completamente satisfactorios.

Sin embargo, existen básicamente 2 criterios para la clasificación de los estreptococos y son los que a continuación se mencionan:

- A) Propiedades hemolíticas.
- B) Estructura antigénica.

A) Propiedades hemolíticas.

El empleo de la hemólisis en placa de agar sangre fue introducido por Schottmüller en 1903 quien sugirió que esta actividad hemolítica fuera utilizada para la clasificación de los estreptococos<sup>(9)</sup>. En base a esto y a sus estudios, en 1919, Brown introdujo los términos alfa, beta y gamma para -- describir los 3 tipos de reacción hemolítica observados en dichas placas de agar sangre<sup>(5)</sup>. Taranta y Moody recientemente han separado y descrito a los estreptococos típicos en las definiciones de Brown. Estas son las siguientes<sup>(17)</sup>:

Alfa hemólisis: Corresponde a una zona vaga de destrucción -- parcial de los eritrocitos alrededor de la co

lonia, y bastante menor que la zona de beta - hemólisis: a menudo acompañada por una decoloración del medio verdosa o marrón.

**Beta hemólisis:** Es una zona clara, bien definida, incolora al rededor de la colonia, en el que el medio está completamente decolorado por la lisis total de los eritrocitos presentes.

**Gamma hemólisis (estreptococos realmente no hemolíticos):** La colonia no produce decoloración ni posee actividad hemolítica aparente.

La expresión de la actividad hemolítica se ve afectada por la composición del medio basal, la producción de las hemolisinas estreptocócicas de acuerdo a la atmósfera de incubación y el tipo de sangre usada.

Dos tipos distintos de hemolisinas son las responsables de la actividad hemolítica, éstas se diferencian en base a su poder antigénico y en su susceptibilidad a la inactivación por la oxidación.

La estreptolisina O tiene poder antigénico y es lábil al oxígeno, pudiendo ser reactivada por la presencia de agentes reductores.

La estreptolisina S no es antigénica y es estable al oxígeno. Esta estreptolisina no se produce en un caldo de -- cultivo sin suero, y se inhibe su formación en un medio rico con glúcidos fermentables (glucosa), debido al ácido que se acumula.

Conociendo estas propiedades, es fácil deducir que la incubación aeróbica de placas por estirpa neutraliza la actividad hemolítica de la estreptolisina O, y, por tanto, limita la caracterización de la acción hemolítica de los estreptococos a la estreptolisina S, que es variable de una cepa a otra.

Han sido estudiados ampliamente los efectos, que sobre la expresión hemolítica poseen diferentes tipos de estreptococos. La conclusión de que el tipo de hemólisis cambia radicalmente desde alfa a beta o gamma, dependiendo del tipo de sangre del medio basal, sorprende y asombra por sus implicaciones. A pesar de que existe algún fundamento para esta inquietante afirmación, en la actualidad la información que se posee señala que estas variaciones en el tipo de actividad hemolítica sólo se dan en el grupo de los enterococos, un 90% de éstos muestran alfa hemólisis en agar sangre de borrego y algunas cepas de S. faecalis dan reacción beta hemolítica con la sangre de caballo, humana y de conejo, mientras que con la de carnero muestran reacción alfa hemolítica. El resto de -- los estreptococos son siempre alfa, beta o gamma hemolíticos--

cualquiera que sea el tipo de sangre usada.

Por tanto, el cambio en la hemólisis beta con sangre de diferentes procedencias, se manifiesta (excepto los enterococos) como una variación en el tamaño de la zona hemolítica y en la definición del borde de la misma, un débil cambio en la opacidad del medio en la zona de hemólisis no es consecuencia de una incompleta hemólisis.

La sangre de borrego es recomendable para el aislamiento del estreptococo beta hemolítico porque contiene un factor que inhibe el crecimiento de *Haemophilus haemolyticus*, el cual es un comensal normal de la garganta y sus colonias son muy semejantes a las de los estreptococos beta hemolíticos en la superficie del agar sangre.

La sangre humana no es recomendable ya que puede contener factores inhibitorios, tales como anticuerpos anti-estreptolisina O, sustancias antibacterianas o concentraciones de ión citrato que inhiben la actividad lítica o el crecimiento de los microorganismos.

En el cultivo de las muestras, es recomendable utilizar medios y condiciones de cultivo que favorezcan la demostración de las características de los estreptococos. Inocular la muestra en un medio sin glúcidos, de pH 7.3 - 7.4 con-

un 4.5l de sangre de carnero desfibrinada. Lo mejor es sembrarlo por la técnica de agar fundido y vertido para poder examinar con el microscopio las colonias internas del medio. Las sospechosas se examinan a bajo aumento (10 X) con un microscopio normal.

Es imprescindible enfocar el borde de la colonia para la determinación de la actividad hemolítica. Es aconsejable sembrar una porción de la superficie por estriación para facilitar el aislamiento de las colonias beta claramente identificadas.

El espesor del agar deberá ser aproximadamente de 4 mm a fin de permitir una buena observación de la hemólisis. Realizando una siembra por punción y estría es posible detectar ambas estreptolisinas, bajo condiciones de aerobiosis.

La incubación bajo tensión de  $\text{CO}_2$  por 13 ó 24 horas se ha recomendado para el aislamiento del estreptococo beta hemolítico sobre placas de agar sangre de carnero.

Los estreptococos beta hemolíticos que producen peróxido pueden aparecer como alfa hemolíticos en la superficie del agar cuando se incuban aeróbicamente o bajo tensión de  $\text{CO}_2$ , ya que la presencia del oxígeno favorece la producción del peróxido y éste impide la lisis celular.

Los estreptococos alfa hemolíticos productores del - peróxido inhiben la expresión de la beta hemólisis producida por el estreptococo del grupo A en la superficie del agar.

Estos factores son muy importantes cuando la hemólisis se determina en cultivos de exudados faríngeos, porque el estreptococo alfa hemolítico es parte de la flora normal de la garganta y los beta hemolíticos son potencialmente patógenos.

Esta clasificación es insuficiente ya que estos diferentes grupos no corresponden a especies definidas. Podemos encontrar estreptococos que presenten el mismo tipo de hemólisis pero que su poder patógeno varíe en gran medida, y por otro lado es posible encontrar una sola cepa de estreptococos que presente diversos tipos de hemólisis, esto es debido a variaciones que sufren en los cultivos. Sin embargo, hay que hacer notar que esta clasificación ha sido y seguirá siendo de gran utilidad en la identificación de los estreptococos ya que viene a ser un punto de partida para la identificación de las especies en particular.

#### B) Estructura antigénica.

La rígida pared de los estreptococos tiene algunas capas de un polímero lineal, que se compone de ácido N-acetil glucosamina N-acetil murámico (péptido glican PPG), unidas am

bas por un puente peptídico formando un enrejado tridimensional. El PPG constituye un 40-50% de la pared celular, en la mayoría de los estreptococos beta hemolíticos y el PPG se encuentra unido covalentemente a la superficie del polisacárido C, probablemente éste protege al PPG contra la lisozima. El carbohidrato ocupa aproximadamente un 30-50% del peso seco de la pared celular intacta y quizás se establece a ambos lados del PPG.

Gracias a los estudios de Rebeca Lancefield y colaboradores<sup>(9)</sup> se reconocieron los patrones de la estructura antigénica del estreptococo beta hemolítico, estableciéndose la base de nuestro conocimiento actual de los estreptococos patógenos.

Mediante extracción de antígenos solubles y aplicando la prueba de precipitina, Lancefield demostró la presencia de antígenos específicos de grupo y de especie en los estreptococos hemolíticos. Cada uno de los grupos de Lancefield se caracteriza por un antígeno específico de grupo (llamado sustancia C) compartido por todos sus miembros.

Comúnmente, el antígeno específico de grupo es de naturaleza polisacárida; sin embargo, se sabe que en dos grupos (D y N) el antígeno es ácido teicoico, correspondiendo en el grupo D a un ácido glicerol teicoico que se encuentra en gran

cantidad por debajo de la pared celular.

El antígeno de grupo es parte de la pared celular, -- más que material capsular, y, en la mayoría de los casos, no es tóxico. La ramnosa parece ser un componente común de estos antígenos del grupo polisacárido que han sido estudiados; se sabe que sólo el antígeno del grupo O está libre de ramnosa. No obstante, la inmunidad específica reside comúnmente en otros residuos de azúcar. En el antígeno polisacárido del grupo A, la especificidad se debe al N-acetil glucosamina que está fija al peptidoglicano de la pared celular a través de residuos de ramnosa. Las mitades de los polisacáridos de estos antígenos específicos de grupo son haptenos, y son inmunogénicos sólo cuando son parte de la pared celular.

Estos antígenos pueden ser extraídos del estreptococo, en el cual ellos son solubles y se pueden precipitar con acetona.

Dan un precipitado específico con un antisuero obtenido en conejos por la inyección de formalizado de estreptococos. Estos antisueros permiten de esta manera la determinación del grupo serológico de una cepa aislada.

Originalmente, basándose en la especificidad de este antígeno, se describieron 5 grupos estreptocócicos designados

como A, B, etc.; desde entonces se han encontrado grupos adicionales que en la actualidad llega al número de 18, los cuales han sido denominados por las letras: A a la H y de la K a la T. En algunos estreptococos no se han identificado antígenos grupo específicos.

La distribución de los grupos antígenicos corresponde aproximadamente a el huésped animal, y al tipo de enfermedad del cual el estreptococo ha sido aislado. Así se llegó a comprobar lo siguiente:

- Grupo A: Principalmente patógenos para el hombre.
- Grupo B: Principalmente agentes de mastitis en el ganado.
- Grupo C: Principalmente patógenos para animales inferiores.
- Grupo D: Encontrados generalmente como comensales en vías digestivas del hombre y animales inferiores.

Sin embargo, esta relación entre origen y grupo inmunológico no es absoluta. En ocasiones, estreptococos del grupo A se encuentran en animales inferiores produciendo, por ejemplo, mastitis del ganado, en tanto que los del grupo C se encuentran con cierta frecuencia en el hombre.

La mayoría de los grupos estreptocócicos pueden dividirse en tipos serológicos en base a otros antígenos de superficie celular. Estos antígenos específicos de tipo son muy -

heterogéneos en clase, distribución y localización celular.

Lancefield demostró que los tipos incluidos dentro -- del grupo A están determinados por un polisacárido compuesto por un polímero de L-ramnosa (60%) y N-acetil D-glucosamina - (30%) en una proporción de 2:1.

Su especificidad antigénica depende principalmente de la naturaleza del residuo terminal de azúcar de sus cadenas -- laterales de ramnosa, que es un oligosacárido.

En el antígeno del grupo A a este determinante es la N-acetil glucosamina.

Cuando cepas de estos estreptococos son pasados a través de ratones llegan a perder su especificidad antigénica y adquieren otra, estas variantes son antigénicamente similares y las variantes correspondientes de cepas del grupo C. En cada caso la terminal amino-azúcar se pierde y la ramnosa queda expuesta.

El determinante antigénico en los polisacáridos grupo B y G viene a ser la ramnosa, por lo cual ambos grupos muestran reacción cruzada. Pero la ausencia de reacción cruzada entre el polisacárido grupo B y la variante grupo A, sugiere una diferencia en el papel de la ramnosa entre los 2 antígenos.

nos. El determinante del polisacárido grupo L es también la N-acetil glucosamina unida al oligosacárido ramnosa, a lo - - cual se debe la reacción cruzada entre los grupos A y L, pero el puente de unión de la terminal de la ramnosa parece ser diferente en los 2 grupos.

Algunos de los estreptococos poseen además antígeno - tipo específico, como parte de la estructura de la pared celu- lar situándose más superficialmente o formando una microcápsu- la. El estreptococo grupo A presenta los antígenos de tipo M T y R los cuales son de naturaleza proteica. Estos antígenos se han detectado por reacciones de aglutinación, con lo cual resulta que los estreptococos del grupo A se subdividen sero- lógicamente en 44 tipos M y 26 tipos T, dependiendo del anti- geno tipo específico de superficie.

Los estreptococos del grupo B poseen un antígeno de - envoltura que es un carbohidrato, éste a su vez presenta 3 tipos separados: I, II y III.

Especies de estreptococos que comprende cada grupo antigénico de Lancefield.

Grupo antigénico de Lancefield	Especies de estreptococos que comprende
A	<u>S. pyogenes</u>
B	<u>S. agalactiae</u>
C	<u>S. equisimilis</u>
	<u>S. zooepidemicus</u>
	<u>S. equi</u>
	<u>S. dysgalactiae</u>
D	<u>S. bovis</u>
	<u>S. equinus</u>
	<u>S. faecalis</u>
	<u>S. faecium</u>
Q,D	<u>S. avium</u>
H	<u>S. sanguis</u>
F,G	<u>S. anginosus</u>
K	<u>S. salivarius</u>
II	<u>S. lactis</u>
Ninguno	<u>S. pneumoniae</u>
Ninguno	<u>S. mitis</u>

A continuación se mencionará los diferentes grupos antigénicos de Lancefield, sus respectivas especies, el tipo de hemólisis que producen y la infección humana que presentan en común:

<u>Grupo</u>	<u>Especie</u>	<u>Hemólisis</u>	<u>Infección humana común</u>
A	<u>S. pyogenes</u>	Beta	Faringo-amigdalitis Infección respiratoria Escarlatina Erisipela Fiebre reumática Fiebre reumática Glomerulonefritis aguda Endocarditis aguda Fiebre puerperal
B	<u>S. agalactiae</u>	Beta	Sepsis neonatal Endocarditis aguda Meningitis
C	<u>S. equi</u> y otros	Beta	Sepsis neonatal Endocarditis aguda
D	<u>Enterococos</u>	Alfa, Beta o	Endocarditis sub-aguda
	<u>S. faecalis</u>	no hemolítico	Meningitis
	<u>S. faecium</u>	cos	Infecciones urinarias
	<u>S. durans</u>		
	<u>No enterococos</u>		
	<u>S. bovis</u>		
	<u>S. equinus</u>		

<u>Grupo</u>	<u>Especie</u>	<u>Hemólisis</u>	<u>Infección humana común</u>
F	<u>S. minutis</u>	Beta	Infecciones dentales Meningitis Sinusitis
G	<u>S. anginosus</u>	Beta	Endocarditis aguda Señis puerperal
H	<u>S. saniois</u>	Alfa	Endocarditis sub-aguda Infección periodontal
I	<u>S. salivarius</u>	Alfa	Endocarditis sub-aguda Meningitis Sinusitis
Miembros de otros grupos que ocasional- mente pueden ser encontra- dos		Alfa o no hemolítico	Endocarditis sub-aguda Meningitis
No a- grupa- do.	<u>S. mutans</u> se- rotipos a,b,c, d,e, y f.	Alfa o no hemolítico	Endocarditis sub-aguda Caries dental Infección periodontal
No cla- sifica- dos inmunoló- gicamente (especies anaeróbicas)	<u>Peptostrepto- coccus</u>	No hemolíti- cos	Abscesos pulmonares y cerebrales Infecciones puerperales Endocarditis Empiema

## 2.2. ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS.

### 2.2.1. MORFOLOGÍA

Los estreptococos son células de forma esférica y de 0.8 a 1.0 micrómetros de diámetro. Las condiciones de los cultivos causan algunas variaciones de tamaño: por ejemplo, - las células individuales frecuentemente son más pequeñas cuando proliferan bajo condiciones anaeróbicas. Las especies de menor tamaño, que a menudo se conocen como estreptococos diminutos, tienen aproximadamente la mitad de tamaño de las células estreptocócicas típicas, o sea de 0.4 a 0.6 micras de diámetro.

Típicamente, los estreptococos característicos se dividen en un solo plano y la tendencia de las células a permanecer unidas ocasiona la formación de las cadenas peculiares -- que dan al microorganismo su nombre genérico.

Esto parece más pronunciado entre las células hijas de primera división celular, y frecuentemente las cadenas tienen aspecto de eslabones de diplococos, con mayor proximidad de los que forman los pares que con los pares adyacentes. La -- firmeza de la unión es en cierto grado característica de especie; algunas especies aparecen como cadenas relativamente largas, otras muestran poco más de dos pares de diplococos.

Aunque los primeros investigadores dieron cierta importancia a la longitud de las cadenas, y suponían que las variedades de cadena larga eran más virulentas esta diferenciación tiene poco valor, a pesar del hecho de que por lo común las cepas aisladas recientemente de procesos patológicos forman cadenas más largas que la flora normal.

Aún entre las formas patógenas se han observado variaciones en la longitud de la cadena; se han descrito variantes de colonias opacas que exhiben cadenas extremadamente largas.

Los factores ambientales también afectan la longitud de las cadenas: la presencia de anticuerpos específicos inhibe las enzimas que causan la separación de las células produciendo cadenas más largas. La formación típica de la cadena es más regular cuando el organismo prolifera en medios líquidos. El examen microscópico de frotis teñidos tomado de cultivos en medios sólidos, y en menor grado de exudados, muestran no sólo estreptococos típicos, sino además células simples, pares y conglomerados ocasionales que semejan a estafilococos.

En la mayoría de los casos, los estreptococos no son móviles. Sin embargo algunas cepas del grupo D de Lancefield, particularmente el Streptococcus faecium, exhiben motilidad. El Streptococcus pyogenes, la especie patógena humana más frecuentemente aislada, así como algunos miembros del grupo C, -

pueden formar cápsulas constituidas por ácido hialurónico. - Los estreptococos no forman esporas.

Los estreptococos se tiñen con facilidad con los colorantes bacteriológicos ordinarios y son típicamente gram positivos; casi todas las cepas aisladas de procesos patológicos-humanos muestran esta reacción. Sin embargo, generalmente se observan cocos gram negativos, lo cual sucede con más frecuencia en padecimientos supurativos de animales inferiores que en humanos. Los cultivos viejos pueden mostrar también tinción gram negativa, así como otras aberraciones morfológicas. (9).

### 2.2.2. CARACTERES DE CULTIVO

Las colonias de estreptococos que se desarrollan en medios de agar, por lo común son muy pequeñas, translúcidas convexas con bordes completos y ligeramente granuladas. Rara vez exceden de 1 mm. de diámetro después de un período de incubación de 24 horas a 37 grados centígrados.

La pigmentación es poco común y se limita a los grupos B y D (S. agalactiae y enterococo), en los cuales a veces se observan pigmentos amarillos o rojos.

Las variedades encapsuladas pueden mostrar colonias mucoides, pero en las cepas virulentas comunes de estreptococo

beta hemolítico, esta forma de colonia se denomina mate, con una superficie basal vidriosa, en contraste con la superficie resplandeciente o brillante característica de las variedades avirulentas. Esta forma de colonia mate aparentemente se relaciona con la presencia de antígeno M en la superficie celular.

### 2.2.3. CARACTERES FISIOLÓGICOS.

Todos los estreptococos son aeróbicos y anaeróbicos facultativos. Cuando crecen en anaerobiosis no utilizan el oxígeno, por lo que se les llama bacterias anaerobias.

Existen cepas de S. pyogenes, neumococos y S. mutans que requieren de una tensión reducida de oxígeno, lo cual se logra añadiendo a la atmósfera de incubación un 5-15% de CO<sub>2</sub>.

Son sensibles a las variaciones de la temperatura y de pH. Como grupo estos microorganismos proliferan dentro de un margen amplio de temperatura, que va desde 10 grados centígrados hasta 50 grados centígrados, aproximadamente. Los estreptococos del grupo piógeno, que incluye la mayoría de los patógenos humanos y animales, son mesofílicos, con temperaturas óptimas de crecimiento cercanos a los 37 grados centígrados. Los del grupo láctico, el estreptococo de la leche y sus derivados, se desarrolla dentro del margen comprendido entre 10 y 37 grados centígrados.

Los estreptococos tienen el mayor margen de desarrollo, que va de 10 grados centígrados hasta por encima de 45 grados centígrados. El margen de temperatura de desarrollo es una característica diferencial importante.

Una temperatura de 60 grados centígrados durante 30 minutos mata a la mayoría de las especies de estreptococos, que por el contrario bajo condiciones de frío sobreviven mejor.

El pH óptimo de crecimiento es de 7.0. El enterococo crece a un pH de 9.0, siendo éste una característica única entre los estreptococos.

Su metabolismo fermentativo utiliza la glucosa, maltosa lactosa y sacarosa como fuentes de energía, su principal producto metabólico es el ácido láctico además de una pequeña cantidad de ácido fórmico, acético y etanol. La producción de ácido láctico ocurre tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas. La acumulación de este producto especialmente en medios ricos en glucosa disminuyen el pH, por lo que es recomendable tamponar los medios ya que este germen es muy sensible a los pH ácidos.

Los requerimientos nutricionales mínimos de los estreptococos son muy complejos ya que son incapaces de sintetizar muchas de sus sustancias esenciales para sobrevivir. En ge-

neral requieren de 12 a 13 aminoácidos con glutamina, riboflavin, ácido pantotónico, piridoxina, ácido nicotínico y biotina. Los estreptococos del grupo A también necesitan derivados del ácido nucleico; su crecimiento es netamente estimulado por péptidos. Algunas cepas se han cultivado en medios -- con hidrolizados de albumina o caseína, complementados con varios aminoácidos y vitaminas; algunos pueden cultivarse en medios químicamente definidos.

Es por esto, que la selección de los medios de cultivo deberá ser bien atinada. En medios ordinarios el crecimiento es muy pobre y suele llevar a fracasos, es por ello que se recomienda el uso de medios enriquecidos entre los cuales tenemos: Infusión cerebro-corazón, infusión de soya-tripticosa e infusión de Todd-Hamitt. El medio sólido más satisfactorio es el agar base con 5% de sangre. En cuanto a los medios líquidos, es recomendable el caldo glucosado tamponado y enriquecido, en los cuales el crecimiento de los estreptococos es en forma de flóculos que se depositan en el fondo del tubo y dejan un sobrenadante claro.

Referente a sus propiedades bioquímicas, tenemos que están desprovistos de todo sistema respiratorio, por lo cual -- dan reacción negativa a las pruebas de catalasa y oxidasa. No presentan solubilidad en sales biliares, lo cual permite hacer diferenciación con los neumococos. Acidifican la leche

por la producción del ácido láctico a partir de la lactosa.

#### 2.2.4. CARACTERISTICAS PECULIARES DEL ESTREPTOCOCO DEL GRUPO A.

A estos microorganismos se les considera como -- los únicos miembros del grupo pyogenes de suficiente importancia clínica, que justifican una definitiva identificación.

En la literatura, a los estreptococos del grupo A comúnmente se les nombra como estreptococos piógenos o estreptococos beta hemolíticos del grupo A.

Estos microorganismos son de forma esférica u ovoide de 0.6 a 1.0 micras de diámetro presentándose típicamente en cadena. Son gram positivos siendo su ultraestructura la característica de las bacterias gram positivas en las que hay una rígida pared celular, una membrana citoplásmica y nucleóide; además en la parte externa de la pared celular hay una superficie bellosa la cual contiene la proteína M tipo específica.

Cepas de estos organismos y algunos del grupo C tienen la capacidad de formar cápsulas que se componen de ácido hialurónico, por lo cual en las placas de agar sangre dan un aspecto mucoso a las colonias, pero como el gel de ácido hialurónico se difunde rápidamente en el medio, sólo es posible de mostrar estas estructuras en cultivos recientes de 2 a 4 horas.

Otra forma de detectar la formación del ácido hialurónico, es en caldos de cultivo a partir de cepas que no dan colonias mucoides. Seastone<sup>(22)</sup> mostró que las cápsulas se forman fácilmente en el ciclo de crecimiento que tienden a desaparecer posteriormente debido a la producción de hialuronidasa. Mc Lennon estableció que las cápsulas son mejor demostradas microscópicamente en cultivos de 24 horas sobre placas húmedas con un 20% de suero de caballo y un 1% de agar glucosa.

El significado de la cápsula en las infecciones naturales es incierto porque poco se sabe acerca del balance entre la formación del ácido hialurónico y de la hialuronidasa por los estreptococos en los tejidos. El hialuronato no es antigénico, debido quizás a que su estructura química no se puede distinguir de la del hialuronato que existe en la substancia intersticial del tejido conjuntivo.

Los estreptococos del grupo A son capaces de presentar formas "L" las cuales carecen de la mayoría de los componentes de la pared celular. Estas formas son inducidas por agentes que actúan directamente en la síntesis de la pared celular, estos agentes son la penicilina, anticuerpos específicos e hidrolasa. También pueden ser inducidos cuando los microorganismos se someten a concentraciones elevadas de sales o por medio de fagos asociados a la lisis.

Por lo regular, la eliminación de la penicilina vuelve a la cepa a su forma inicial, sin embargo existen formas L -- que no son capaces de sufrir esta reversión. Las formas L se caracterizan porque pueden multiplicarse y así dan origen a las colonias L en medios de agar hipertónicas. Durante su -- crecimiento liberan el antígeno M de la pared celular al medio, así como también la hemolisina y la desoxirribonucleasa. El papel que juegan las formas L en las infecciones o en la -- persistencia de los estreptococos en los tejidos no es del to do conocido.

Todos los estreptococos del grupo A muestran beta hemólisis sobre placas de agar sangre, pero existen algunas variantes no hemolíticas que son poco comunes, y de varios tipos:

Primero tenemos aquellos que producen colonias alfa hemolíticas cuando son incubados aeróbicamente y beta cuando se someten a anaerobiosis. Fuller y Maxted (1939) <sup>(14)</sup> demostraron que intervienen varios factores en estos resultados. Las colonias beta hemolíticas bajo condiciones aeróbicas se forman si todos los azúcares reductores son removidos o si la en zima catalasa es adicionada al medio. Ellos sugirieron que -- en las colonias alfa el peróxido se forma antes que la hemoli sina responsable, con lo que resulta la zona verdosa. Si la -- formación de peróxido es prevenida por una incubación anaeró-

bica o es neutralizada por la catalasa, la hemolisina produce típicas colonias beta hemolíticas.

El segundo tipo de variantes, son aquellas colonias que son completamente hemolíticas. Estas fueron descritas por Co burn y Pauli (1941) y Colebrook (1942) <sup>(14)</sup>. A partir de un brote de una infección respiratoria por estreptococos, establecieron que el agente causal se presentaba de dos maneras, una es que daban colonias hemolíticas a 37 grados centígrados y otra es que daban las mismas colonias pero sólo a 22 grados centígrados.

Se estudiaron una serie de casos en que a partir de heridas se aislaron colonias no hemolíticas, tanto aeróbica como anaeróbicamente. Estos dos correspondían siempre al mismo serotipo y no formaban la hemolisina S, pero la mayoría de ellos se ha probado que producen la hemolisina O. Finalmente Todd fue capaz de obtener por medio de pases por ratones de cepas típicas de estreptococos beta hemolíticos, variantes -- que no producen hemólisis aeróbicamente pero sí beta hemólisis anaeróbicamente.

Ya hemos mencionado las propiedades fisiológicas de los estreptococos en general en donde obviamente se incluyen los del grupo A. A continuación daremos las características propias de este tipo de microorganismos.

Su crecimiento óptimo es a un pH de 7.4 a 7.6 a 37 grados centígrados produciendo bajo estas condiciones colonias - convexas, grisáceas, opalescentes de 0.5 mm de diámetro, dando el aspecto de gotitas de rocío con su beta hemólisis característica, muchas veces mayor que el mismo diámetro de la colonia. El medio para el crecimiento deberá estar provisto de péptidos en forma de un dializado de infusión de carne, el -- cual es necesario para un crecimiento completo y para la elaboración de productos extracelulares y protefina M, además deberá contener sangre de carnero desfibrinada al 5% preferiblemente.

Presentan variación en cuanto al tipo colonial, como ya mencionamos anteriormente existen colonias mate, brillantes y mucoides. Las cepas que presentan colonias mucoides producen cápsulas de gran tamaño, por lo tanto la abundancia de ácido-hialurónico da a la colonia un aspecto acuoso y brillante y - le confiere virulencia.

Las colonias mate se les considera como colonias mucoides desecadas, el gel se deshidrata y la superficie de la colonia se contrae y se convierte en rugosa.

Los tipos brillantes son los de menor tamaño, sus células no producen hialuronato o no lo incorporan en forma de -- gel capsular, por lo tanto no son virulentas.

En cuanto a los caracteres bioquímicos, son uniformes - pero no distintivos. Además de las propiedades comunes de todos los estreptococos, son sensibles a la bilis, muchos de ellos no crecen en agar bilis al 10%, no hidrolizan el hipurato y - rara vez la esculina. Usualmente fermentan la lactosa, trealosa, sacarosa y salicina pero no el monitol, sorbitol, insulina o rafinosa. Con la excepción de la cepa tipo 3, el peróxido se produce generalmente por la ausencia de un sistema citocromo como la catalasa.

Es importante hacer notar que estos microorganismos son anaerobios facultativos y algunas cepas son capaces de crecer a tensiones reducidas de oxígeno (3 a 5% de  $CO_2$ ).

Su metabolismo es fermentativo siendo su principal producto el ácido láctico. Su crecimiento se favorece en un medio libre de azúcares o con un sistema buffer para evitar los pH ácidos.

#### 2.2.5. ESTRUCTURA CELULAR

La célula del estreptococo grupo A presenta en - su superficie una estructura compleja que contiene un gran número de antígenos. Su envoltura exterior está compuesta de - un gel de ácido hialurónico, aunque esta cápsula es muy in - constante. Por debajo de esta cápsula se encuentra una es - tructura proteica muy resistente: la pared celular. Se puede

considerar que esta pared comprende tres capas. Una capa externa que localiza a 3 antígenos proteícos, uno de ellos la -proteína M la cual se relaciona con la virulencia por tener -propiedades antifagocitarias, y los otros dos antígenos T y R que no se relacionan con la virulencia.

Una capa media, que por su peso constituye la parte más importante de la pared celular, está compuesta por un carbohidrato grupo específico en el cual se basa la clasificación de Lancefield. Este carbohidrato se encuentra unido covalentemente al peptidoglicano, que es un polímero lineal que se compone de ácido N-acetil glucosamina N-acetil muránico. Este -PPG constituye el 40 a 80% de la pared celular y el carbohidrato aproximadamente un 30 a 50% del peso seco de la pared celular y cerca de un 10% del peso de la célula intacta.

En la última capa de la pared celular existe una delicada membrana que incluye el citoplasma celular. La membrana es una triple capa, que se compone de lípidos, proteínas y glucosa. El citoplasma de los estreptococos contiene proteínas -- (incluyendo enzimas) y ácidos nucleicos. Un total de 11 compuestos diferentes se han detectado en esta estructura, entre ellos una nucleoproteína.

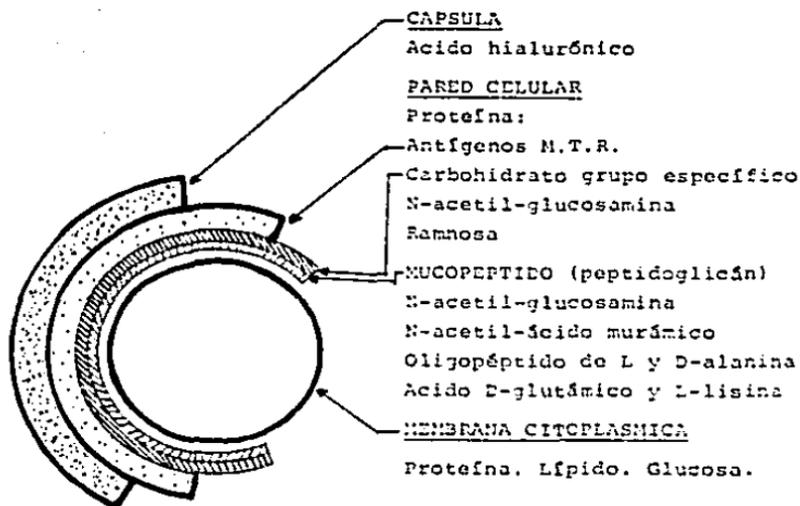


FIGURA 1. Diagrama esquemático de la cápsula, pared celular y membrana citoplásmica de la célula de estreptococo hemolítico grupo A.

### 2.2.6. PRODUCTOS EXTRACELULARES

La gran variedad de procesos patológicos producidos en el hombre por los estreptococos hemolíticos del grupo A pueden estar en relación con el elevado número de productos extracelulares que estos organismos son capaces de producir.- Por métodos inmunoelectroforéticos, por ejemplo, se han encontrado en mezclas de globulinas gama humanas 20 anticuerpos diferentes que reaccionan con los antígenos extracelulares elaborados por la cepa C-203 de estreptococo hemolítico del grupo A. Estos datos sugieren que los estreptococos del grupo A pueden liberar hasta 20 antígenos extracelulares cuando crecen en tejidos humanos. De entre todos los identificados, -- los que se citan a continuación parecen tener mayor significación patogénica. (5)

METABOLITO EXTRACELULAR	ANTICUERPO
Toxina eritrogénica	Antitoxina eritrogénica
Estreptolisina "O"	Antiestreptolisina "O"
Estreptolisina "F"	No antigénica
Alfa hemolisina	No descrito
Estreptocinasa	Antiestreptocinasa
Desoxirribonucleasas	No descrito
Ribonucleasa	No descrito
Hialuronidasa	Antihialuronidasa

Toxina eritrogénica:

Se sabe que la toxina eritrogénica es responsable del exantema de la escarlatina. Las cepas de estreptococos del grupo A que producen toxina eritrogénica son lisogénicas (de modo parecido a las cepas toxicógenas de Corynebacterium diphtheriae).

La cantidad de toxina producida por las diferentes cepas lisogénicas es muy variable.

No se conoce el modo exacto de acción de la toxina eritrogénica. Cuando se inyecta en la piel de niños sensibles, causa reacciones eritematosas localizadas, cuyo máximo aparece alrededor de las 24 horas (prueba de Dick). Este efecto eritrogénico se neutraliza por los anticuerpos, como se evidencia: 1) por el hecho de que durante la convalecencia, cuando el suero de los enfermos contiene un título alto de antitoxina, la prueba cutánea se vuelve negativa, y 2) por la observación de que la inyección intradérmica de antitoxina homóloga en la acné de la escarlatina determina la desaparición local del exantema (prueba de Schultz-Charlton).

De acuerdo con ello, una prueba de Dick positiva se interpreta como muestra de la ausencia de antitoxina circulante y, por ello, de sensibilidad a la escarlatina.

Hay tres clases de toxina eritrogénica inmunológicamente distintas (tipos A, B y C), producidas por diferentes cepas de estreptococos. Posiblemente las 3 son proteínas. Ciertas cepas de estreptococos hemolíticos de los grupos C y G, - así como de estafilococos, producen toxinas eritrogénicas muy parecidas, si no idénticas, a las de los estreptococos del grupo A. (5)

Hemolisinas estreptocócicas o estreptolisinas.

Marmoreck (1895) (22) mostró que algunos estreptococos tienen la capacidad de lisar a los glóbulos rojos y que el factor responsable de esta hemólisis se puede extraer de los organismos y obtenerla en los filtrados de cultivos. Todd (1932-1938) y Wild (1935), demostraron que existen no sólo una sino dos hemolisinas estreptocócicas, las cuales son sustancias protéicas, y no sólo hemolíticas sino también tóxicas para los animales. Dichas lisinas se les designó como estreptolisina "O" y estreptolisina "S", cada una de las cuales tiene su forma específica de acción. Ambos son extremadamente lábiles a temperaturas de 37 grados centígrados y desaparecen rápidamente en los cultivos después de las primeras horas de incubación.

Las 2 son producidas además por los estreptococos de los grupos C y G, son citopáticas para células de mamíferos y bloquean la fagocitosis; quizás por daño quimiotáctico y por-

ingestión de leucocitos y destrucción de sus lisosomas.

Estreptolisina "O".

Se le denomina así por la facilidad con que es inactiva da irreversiblemente por el oxígeno atmosférico. Es una halo protefina con un peso molecular de 25-70,000 posee una actividad muy grande sobre los eritrocitos del hombre y otras especies de animales y se sabe que la cantidad necesaria para la lisis de un eritrocito está por el orden de  $10^{-11}$  microorga- nismos, es decir, 1000 000 veces menos que la saponina neces ria (en moléculas).

En contacto con el aire, la lisina se encuentra en su estado oxidado (estado inactivo), y se reduce rápidamente con agentes reductores tales como la cisteína, beta-mercaptanol o hidrosulfito de sodio. En estas condiciones de reducción es cuando la lisina es hemolítica o citotóxica y letal, y es por esto que in vitro la estreptolisina "O" manifiesta su actividad sólo en la profundidad del medio al abrigo del aire o en la superficie del agar cuando se somete a condiciones de anaerobiosis.

La actividad hemolítica depende de los grupos SH que -- contienen, ésta es fuertemente inhibida por el colesterol y -- otros esteroles y con un tratamiento de iodoacetamida o peryo dato ocurre una destrucción irreversible. Permanece estable-

cuando se le somete a temperaturas de congelación, pero se -- inactiva irreversiblemente a temperatura ambiente quizás por la acción de la protefina estreptocócica.

La estreptolisina "O" parece ser importante para la virulencia del estreptococo, siendo tóxicas para células rojas y blancas tanto in vivo como in vitro, además de que afecta - también a células del miocardio en cultivos y muestra una actividad específica cardiotóxica provocando en animales de laboratorio, efectos letales debido a una disfunción cardíaca.

Cuando esta toxina altamente potente es inyectada intra venosamente en ratones, conejos y cobayos mueren en cuestión de segundos.

El mecanismo de acción de esta toxina sobre las células ocurre de la manera siguiente:

La hemólisis comienza después de un período de latencia (tan pequeño como un minuto, con una alta concentración de li sina) y es casi instantánea. La estreptolisina en su forma - reducida comienza a liberarse y se une a los glóbulos rojos - probablemente por la fijación del colesterol en la membrana, - como ya se mencionó esta lisina tiene acción citopática tam- bién sobre los leucocitos (granulocitos y macrófagos) de tal- manera que afecta primeramente a la membrana plasmática de la célula con lo cual puede penetrar a ella. Una vez que esto -

ocurre se origina una lisis de los gránulos citoplásmicos (lisosomas) de los leucocitos provocando que las enzimas hidrolíticas de estos gránulos se liberen al citoplasma y lesionen a la célula de una manera irreversible, otras enzimas pueden afectar de igual manera otras estructuras celulares tales como las mitocondrias, aumentando de esta manera las lesiones estreptocócicas.

Otra de las propiedades importantes de esta estreptolisina es que es antigénica (tanto en su estado oxidado como reducido), por lo que determina la formación de anticuerpos que neutralizan su acción hemolítica. Dichos anticuerpos se encuentran presentes en el suero de convalecientes de una infección faríngea o sistémica producida por estreptococos.

Los anticuerpos antiestreptolisina-O pueden ser detectados por inhibición de la hemólisis por toxina reducida y esta es la base de la prueba de anti-estreptolisina O (ASO).

Los títulos de la ASO y la prevalencia de la población aumentan con la edad.

De este modo un título de 300 a 500 se consideran en poblaciones infantiles como de alto riesgo de infección estreptocócica, mientras que en los adultos estos títulos se consideran bajos.

Esta hemólisis presenta una reactividad inmunológica -- cruzada y propiedades similares como oxígeno lábil con otras toxinas tales como la hemolisina neumocócica, tetanolisina y la toxina O de Ci. perfringens todas estas son neutralizadas por suero de caballo hiperinmunizado contra la estreptolisina O.

La hemolisina de Bacillus cereus fue similarmente neutralizada por antiestreptolisina -O de caballo, pero con la antiestreptolisina -O de humano no tuvo el mismo efecto.

#### Estreptolisina "S".

La naturaleza bioquímica de esta lisina es un poco confusa pues no es como la estreptolisina-O de naturaleza proteica en su totalidad, se dice que su molécula consta de una parte proteica o péptido hemolítico específico y una parte no -- proteica cuya naturaleza varía según las condiciones del medio. La parte no proteica se une a un acarreador molecular que puede ser albúmina sérica, lipoproteína sérica, polinucleótidos de ácido ribonucleico y detergentes no iónicos.

La extracción de esta lisina dependerá de que se forme el complejo péptido hemolítico-portador macromolecular. Además de que como esta substancia es muy termolábil es difícil su purificación. No ha sido posible aislar libre la lisina del portador.

En los primeros estudios se estableció que la adición - de suero a caldos estimulaba la producción de la hemolisina. - Later <sup>(22)</sup> estableció que cuando el suero se adiciona a suspensiones lavadas de estreptococos, la hemolisina aparece rápidamente y se puede detectar en el filtrado. De este hecho deriva el nombre de estreptolisina - S (S de suero).

La hemolisina es una molécula estable frente al oxígeno por lo que no se inactiva por la oxidación y manifiesta sus - propiedades hemolíticas tanto in vivo como in vitro en placas de agar sangre, siendo responsable de la beta hemólisis - superficial de las colonias de muchos estreptococos cuando se incuban aeróbicamente. Algunas cepas carecen de esta hemolisina por lo que aparecen como no hemolíticas sobre la superficie del cultivo.

Es sensible al calor y al ácido y puede ser preservada solo por almacenamiento a temperaturas bajas. Es fuertemente inactivada por lecitina y beta-lipoproteínas, pero no por el colesterol y se inhibe por la fosfatidilcolina y fosfatidilcolina lamina.

Tiene un peso molecular considerablemente menor a 20000 lo que explica quizás su falta de antigenicidad. Berheiner - explica que este agente hemolítico es un compuesto peptídico que consta de unas 28 moléculas de aminoácidos.

Como es antigénica no se encuentran anticuerpos que - - sean capaces de neutralizar la acción de esta hemolisina la - - cual se considera la más tóxica de las sustancias producidas por el estreptococo, pero como ya se dijo anteriormente, esta acción se inhibe por las lipoproteínas séricas.

La actividad lítica se ejerce sobre una gran variedad - de células como los glóbulos rojos, granulocitos, macrófagos, protoplastos, formas L, además in vitro tiene una acción cito - pática sobre los leucocitos y una variedad de células tumora - les afectando además estructuras subcelulares como la mitocon - dria y lisosomas.

El modo de acción de esta lisina es muy parecido a la - de la hemolisina O, sólo que la lisis ocurre más lentamente. - Una vez que el péptido hemolítico se ha liberado de la bacte - ria y se une al portador molecular, éste la transporta hasta - la superficie de las células en donde actúa directamente sob - re los fosfolípidos de la membrana celular y ahí se inactiva el péptido.

La estreptolisina -S tiene un efecto letal sobre anima - les de laboratorio. Por inyección intravenosa en conejos cau - sa rápidamente la muerte con evidencia de hemólisis intravas - cular y la inyección intraperitoneal en ratones causa necro - sis de los túbulos renales.

El estreptococo grupo A posee además una hemolisina intracelular con propiedades similares a la tipo S, solo que sí presenta antigenicidad. Dicha lisina puede ser liberada solo después de una sonificación bacteriana prolongada.

#### Estreptocinasa.

En 1939, Tillett y Garner<sup>(5)</sup> descubrieron una sustancia en los filtrados de cultivos estreptocócicos que producía lisis de los coágulos de sangre humana. Denominada primero - fibrinolisis estreptocócica, se demostró posteriormente que catalizaba la conversión del plasminógeno en plasmina, por lo que fue llamada posteriormente estreptocinasa.

Se han aislado dos especies moleculares de estreptocinasa (A y B), que difieren por su antigenicidad y por su movilidad electroforética son inmunogénicas e inducen la producción de anticuerpos antiestreptocinasa en la mayor parte de las enfermedades causadas por estreptococos del grupo A. Aunque su acción se ha relacionado a menudo con la falta de formación de barreras limitantes de fibrina en la periferia de las lesiones estreptocócicas, permitiendo así a los gérmenes, su difusión con gran rapidez, no existen datos concluyentes para mantener esta sugestiva hipótesis. En efecto, la invasividad de las lesiones estreptocócicas no parece estar influida por los anticuerpos antiestreptocinasa.

### Hialuronidasa.

La mayor parte de los estreptococos hemolíticos producen hialuronidasa, cuya acción enzimática despolimeriza la -- sustancia fundamental de los tejidos. (9)

Las cepas aisladas de faringes normales producen tanta hialuronidasa como las de infecciones graves o benignas.

La sustancia capsular de cepas encapsuladas de estreptococos hemolíticos de los grupos A y C está formada por ácido hialurónico, y tales cepas no producen hialuronidasa, a pesar de que generalmente son virulentas. Cabe suponer que la producción de esta sustancia pueda tener relación causal con la capacidad de los estreptococos virulentos para diseminarse en los tejidos; en efecto, la producción de hialuronidasa aumenta en presencia del sustrato. La virulencia de las cepas encapsuladas y la falta de datos experimentales parecería invalidar esa afirmación. Por el contrario, la producción de ácido hialurónico, o sea, de cápsulas, aparentemente sin importancia para la infección experimental por vía intraperitoneal, parece ser esencial para la infección causada por inhalación.

### Desoxirribonucleasa.

Los estreptococos del grupo A, además elaboran enzimas que despolimerizan el ADN (DNasas). En los filtrados de es--

treptococos se han encontrado 4 tipos inmunológica y electroforéticamente distintos, llamados A, B, C y D. Dado que estas enzimas no penetran a través de las membranas plasmáticas de las células vivas de los mamíferos, no son citotóxicas. Sin embargo, son capaces de despolimerizar las acumulaciones viscosas de ADN que existen en el pus espeso como resultado de la desintegración de los leucocitos polimorfonucleares. Preparaciones enzimáticas que contienen estreptocinasa y desoxirribonucleasa estreptocócicas (estreptodornasa) fueron introducidas por Tillet para fluidificar exudados purulentos en enfermedades tales como el empiema neumocócico.

#### 2.2.7. PRUEBAS ESPECIFICAS PARA LA IDENTIFICACION DE ESTREPTOCOCCOS BETA HEMOLITICOS DEL GRUPO A.

##### SUSCEPTIBILIDAD A LA BACITRACINA.

Esta prueba se utiliza para distinguir entre estreptococos beta hemolíticos del grupo A de otros tipos de estreptococos también beta hemolíticos (no grupo A). Sin embargo, se deben tener en cuenta varios factores importantes en su uso:

- 1) Utilizar discos diferenciales, no de sensibilidad. - Estos últimos contienen una concentración excesiva de bacitrocina para permitir una diferenciación segura entre los del grupo A y el resto. Los discos de bacitrocina diferenciales contienen unas 0.04 U por disco, mientras que los de sensibi-

lidad contienen 10 unidades por disco.

2) Emplear un inóculo abundante de un cultivo puro. Si el inóculo es escaso, cepas de estreptococos no pertenecientes al grupo A parecerán más susceptibles a la bacitracina.

3) Usar un cultivo puro. La prueba se ha diseñado para cultivos puros y no mixtos. Se ha visto que el uso de estos discos en placas primarias inoculadas con exudado faríngeo só lo han permitido un 70% de precisión en la identificación del estreptococo grupo A.

4) Usar únicamente estreptococos beta hemolíticos. Deberá diferenciarse bien el tipo de hemólisis, ya que muchos - estreptococos alfa hemolíticos incluyendo el neumococo son -- inhibidos por el disco diferencial. Para esto, cada nuevo lo te de discos deberá ser probado con cepas conocidas tanto del grupo A, como no grupo A, a fin de establecer variación y estabilidad.

5) Interpretar toda zona de inhibición como indicación positiva independientemente de su tamaño. La ausencia de zonas de inhibición, cualesquiera que sea su diámetro, significa que el cultivo es resistente.

Aún cuando algunos autores y boletines técnicos reco-

miendan medir el tamaño de la zona de inhibición, el creador de la prueba (Maxted) no estipuló que las zonas debían ser de un determinado tamaño. No existen datos experimentales que confirmen que deban medirse los diámetros de las zonas a fin de diferenciar entre los estreptococos grupo A de los no grupo A; además de que los resultados falsos positivos son potencialmente poco perjudiciales que si son falsos negativos. Al considerar un determinado diámetro (10 mm) para tomar como positiva la prueba, aumentó el error en un 10% (falsos negativos). Aproximadamente un 5% de los estreptococos grupo A, -- tienen zonas menores de 10 mm de diámetro. Se ha logrado identificar un 99.5% de los estreptococos grupo A sin considerar el tamaño de la zona.

Se debe tener en cuenta de que los discos de bacitracina, inhiben el crecimiento de algunas cepas de estreptococos-beta hemolíticos no grupo A, por lo que el informe del laboratorio según se recomienda en el manual de procedimientos para el aislamiento e identificación de estreptococos, deberá ser:

- a) Probable estreptococo del grupo A, por medio de la prueba de la bacitracina.
- b) Estreptococos beta hemolíticos no grupo A, por la prueba de la bacitracina.

Aproximadamente un 6% de los estreptococos beta hemolíticos grupo B de origen humano son susceptibles a la bacitra-

cina. Este error puede ser eliminado usando una prueba fisiológica para la identificación presuntiva de los estreptococos del grupo.

La mayor causa de error en esta prueba es la susceptibilidad de los estreptococos beta hemolíticos no grupo A, B ni D. Los estreptococos de los grupos C y G son ocasionalmente susceptibles (7.5%), por lo tanto son identificados por error como del grupo A.

Los estreptococos viridans muestran también susceptibilidad en un 7.8% pero puede eliminarse este error identificando correctamente la actividad hemolítica de las cepas.

### 2.3. FISIOPATOGENIA Y EPIDEMIOLOGIA DE LAS INFECCIONES CAUSADAS POR ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO A.

#### 2.3.1. FISIOPATOGENIA.

Los estreptococos del grupo A poseen numerosos -- factores que incrementan la virulencia y permiten que los organismos se establezcan en el huésped. Muchas cepas tienen predilección por las vías aéreas superiores, en oposición a la piel, pero no están claros los mecanismos responsables de esta especificidad de tejidos.

Recientemente, sin embargo, se ha demostrado que las cepas faríngeas o cutáneas pueden unirse selectivamente con cé-

lulas epiteliales en estos sitios.

Los estreptococos del grupo A portadores de protefna M- de superficie son resistentes a la fagocitosis. Se ha demostrado que la pared celular del estreptococo activa el complemento a través de la vía alternativa. Esto parece deberse a un receptor de superficie para activadores de la vía alternativa, que puede ser reconocido por fagocitos e iniciar la fagocitosis. La protefna M bloquea la activación del complemento y así puede conferir resistencia a la fagocitosis por este mecanismo.

Sin embargo, la presencia de anticuerpos de tipo específico hace que los organismos sean tomados por neutrófilos y monocitos, probablemente por activación de la opsonización a través de la vía clásica del complemento.

Los estreptococos son rápidamente destruidos luego de la ingestión, y la desintegración de la mayoría de los organismos ocurre en 1 a 4 horas. Sin embargo, la pared celular es resistente a la lisozima u enzimas lisosómicas y puede persistir en células o tejidos indefinidamente. La pared celular y glucopéptidos de los estreptococos del grupo A producen lesiones inflamatorias crónicas en tejidos animales y pueden provocar la aparición de nódulos cutáneos y miocarditis en conejos. Además la pared celular y los glucopéptidos inducen -

la activación in vitro del complemento, con producción de factores quimiotácticos capaces de causar inflamación. Se ha -- postulado, pero no se ha demostrado el papel de estos fenómenos en la inducción de enfermedades posestreptocóccicas. (14)

El estreptococo del grupo A puede ocasionar tanto enfermedades supurativas como secuelas no supurativas.

El primer grupo incluye la faringitis estreptocóccica aguda (con o sin escarlatina) y todas sus complicaciones supuradas, incluyendo la adenitis cervical, la otitis media, la mastoiditis, los abscesos peritonsilares, la meningitis, la peritonitis y la neumonía.

También incluye las infecciones uterinas estreptocóccicas del puerperio (sepsis puerperal), la celulitis de la piel el impétigo, la linfangitis y la erisipela. Las principales enfermedades no supurativas son la glomerulonefritis aguda y la fiebre reumática.

#### Enfermedades supurativas.

Faringitis y escarlatina.- La faringitis estreptocóccica habitualmente asociada con organismos del grupo A, aunque se han informado casos esporádicos y epidemias con microorganismos de los grupos C y G. Cuando la infección es causada por una cepa infectada con un bacteriófago atenuado, puede produ-

cirse escarlatina.

En la era preantibiótica, la faringitis estreptocócica frecuentemente se asociaba con complicaciones supurativas - (abscesos amigdalinos, otitis, septicemia, mastoiditis, osteomielitis) así como no supurativas (fiebre reumática aguda y glomerulonefritis). Ya sea por la administración temprana de antibióticos o por cambios en la virulencia, la incidencia de secuelas serias ha declinado progresivamente.

La infección faríngea puede ser asintomática o puede asociarse con todos los grados del síndrome de dolor de garganta, fiebre, escalofríos, cefálea, malestar, náuseas y vómitos. Ocasionalmente, se observa dolor abdominal en niños y puede confundirse con apendicitis. La faringe puede presentarse levemente eritematosa o francamente enrojecida con exudados amarillo-grisáceos que con frecuencia sangran cuando se efectúan hisopados para cultivos. Habitualmente se constatan adenopatías cervicales anteriores y leucocitosis. Pueden verse síndromes clínicos indistinguibles de una faringitis estreptocócica en la difteria, mononucleosis infecciosa, e infecciones por muchos virus respiratorios (adenovirus, virus Coxsackie, rinovirus y Herpes simplex).

La asociación de un enrojecimiento escarlatíniforme (eritema que se emblanquece con la presión, que inicialmente --

compromete el tronco y el cuello y se disemina hacia las extremidades) es casi diagnóstico de infección estreptocócica.

Los pacientes pueden presentar varios episodios de escarlatina, ya que existen por lo menos tres toxinas eritrogénicas (pirógenas) diferentes.

Probablemente la infección faríngea confiere inmunidad de tipo específico para el resto de la vida del paciente. Sin embargo, un tratamiento temprano puede abortar la infección natural y prevenir o modificar la respuesta inmune.

#### Infección cutánea.

Con frecuencia se aíslan estreptococos del grupo A, y en menor grado de los grupos B,C,D y G, de lesiones cutáneas. Los estreptococos del grupo A producen impétigo, celulitis, erisipela, infección de heridas y gangrena.

El impétigo es una infección muy superficial de la piel caracterizada por la formación de costras, lesiones de color ámbar que pueden comenzar como pequeñas vesículas. Las lesiones tempranas habitualmente contienen sólo estreptococos, pero también pueden hallarse estafilococos o éstos pueden sobreinfectar posteriormente lesiones estreptocócicas. Se han implicado muchos serotipos y diversas de las llamadas cepas epidérmicas han sido asociadas con brotes de nefritis (por ejem-

plo, tipos M2, 49, 55 y 57).

Además, muchos organismos aislados o carecen de proteína M detectable o más probablemente, representan tipos M todavía no descritos. Los tipos 59 ó 63 han sido descritos recientemente y constantemente se encuentran otros serotipos nuevos. Los patrones de aglutinación T han sido de gran uso en la categorización de cepas que no podrían ser tipificadas de otra forma.

Puede producirse celulitis con linfangitis y adenoparitis locales luego de una invasión más profunda de estreptococos. Se observan síntomas sistémicos como fiebre, escalofríos y malestar, y puede producirse una invasión del torrente circulatorio. La erisipela es una infección de la piel y tejidos subcutáneos que habitualmente ocurre en la cara. La lesión se caracteriza por eritema, edema e induración, que habitualmente presenta un borde diferenciado que avanza. Pueden aislarse estreptococos de la piel y ocasionalmente de la sangre. Algunos individuos están predispuestos a recaídas, habitualmente en el mismo sitio. La celulitis superficial puede diseminarse causando gangrena, especialmente en pacientes con enfermedad vascular periférica o diabetes.

Además del grupo A, pueden estar involucrados estreptococos del grupo B, C y D y anaerobios. Ocasionalmente se

constatan brotes esporádicos de onfalitis en recién nacidos.- Puede presentarse una glomerulonefritis aguda luego de cualquiera de estas infecciones cuando son causadas por estreptococos del grupo A. Sin embargo, la fiebre reumática sólo se presenta luego de infección respiratoria.

No está documentado el desarrollo de inmunidad de tipo-específico en el impétigo estreptocócico. Se han demostrado anticuerpos para protefina M de muchas de las cepas piodérmicas en menos del 10% de las infecciones.

#### Sepsis puerperal.

La sepsis puerperal era una causa común de mortalidad -materna en la era preantibiótica. Los estreptococos pueden provenir de la flora vaginal normal o son introducidos durante el parto, ocasionalmente por el obstetra o las enfermeras. Ocasionalmente todavía se dan casos en algunos hospitales, y algunos pueden deberse a portadores respiratorios o anales de estreptococos. En años recientes, gracias a las mejores técnicas obstétricas, las infecciones puerperales son poco comunes. El síndrome clásico se caracteriza por escalofríos, fiebre, -enrojecimiento facial, distensión abdominal con sensibilidad-pelviciana y secreción vaginal serosanguinolenta.

Con frecuencia se aíslan estreptococos del grupo A de los loquios o de la sangre. La mortalidad ha disminuido en -

forma significativa con los antibióticos, incluso con tratamiento, la recuperación puede ser complicada y prolongada.

Secuelas de infección estreptocócica aguda.

Fiebre reumática aguda (FRA).- La fiebre reumática ha sido descrita por Feinstein como una porción arbitrariamente designada del espectro de complicaciones inflamatorias que -- pueden seguir a infecciones por estreptococos del grupo A, manifestada por la aparición, ya sea sola o en diversas combinaciones, de artritis, carditis, corea, eritema marginado o nódulos subcutáneos.

Esta constelación de síntomas habitualmente aparece 2 a 3 semanas después del comienzo de la infección estreptocócica aunque la corea y el eritema marginado pueden observarse hasta 6 meses después. La diversidad de las manifestaciones de la fiebre reumática, la demora del comienzo luego de la infección y la incapacidad antes de la década del 30 para clasificar a los estreptococos, hicieron que fuera considerablemente difícil entender esta enfermedad.

Además de los criterios clínicos, la comprobación de infección estreptocócica reciente por cultivo o serología es de capital importancia. Dado que la infección estreptocócica -- causal puede haberse resuelto o puede haber sido asintomática es necesario detectar un aumento en el título de anticuerpos-

para por lo menos uno de los diversos antígenos estreptocócicos (estreptolisina O, ADN asa, hialuronidasa o estreptoquinasa).

La capacidad para documentar un cambio en los títulos - depende de la duración del período de latencia, ya que muchos pacientes pueden tener una respuesta máxima en el momento de la enfermedad aguda.

Puede observarse fiebre reumática en hasta un 3% de los individuos durante faringitis epidémica.

También pueden observarse estados inflamatorios postestreptocócicos más leves (fiebre artralgia sin artritis, eritema nodoso), pero no se clarifican como fiebre reumática a menos que se asocien con manifestaciones mayores (carditis, artritis, corea). La mayor morbilidad y mortalidad asociadas - con fiebre reumática están ligadas con el posterior desarrollo de valvulopatía reumática, responsable de aproximadamente 15 000 muertes por año en los Estados Unidos. La incidencia de esta complicación depende primariamente de la incidencia y severidad de la carditis, durante la FRA y brotes posteriores de FRA.

La patogenia de la fiebre reumática se comprende pobremente. Se han propuesto diversas teorías, incluyendo reacti-

vidad antigénica cruzada entre antígenos estreptocócicos y tejido cardíaco, toxicidad directa debida a exotoxinas estreptocócicas, invasión real del corazón por los estreptococos, o localización de antígenos dentro del músculo o tejidos valvulares lesionados. No es necesario decir que el estreptococo produce muchas exotoxinas potencialmente lesivas, y se ha demostrado que los componentes de su pared celular producen inflamación en tejidos de mamíferos. Es posible que nunca se dilucide la verdadera patogenia de la FRA debido a la falta de un modelo experimental adecuado.

#### Glomerulonefritis posestreptocócica aguda (GNA).

La GNA es una complicación de faringitis o infección cutánea por estreptococos del grupo A. En contraste con la fiebre reumática, que puede aparecer luego de infección faríngea con cualquier serotipo, la GNA es causada por un número limitado de cepas nefritógenas.

El tipo 12 se ha asociado con mucha frecuencia con GNA luego de faringitis y una variedad de cepas, muchas de ellas tipo M recientemente definidos, se han asociado con nefritis piodérmica. La incidencia de GNA en epidemias o infecciones estreptocócicas esporádicas puede variar desde menos del 1% hasta 10 a 15%.

La GNA se observa más a menudo en niños y se caracteri-

za por edema de comienzo agudo, oliguria, hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva y con frecuencia convulsiones. - Los hallazgos de laboratorio incluyen orina oscura o ahumada con eritrocitos, cilindros eritrocíticos, glóbulos blancos, - proteinuria, disminución de complemento sérico, disminución de la tasa de filtración glomerular y evidencias serológicas de infección estreptocócica reciente. Además, con frecuencia ocurren casos menos severos y pueden asociarse con cambios mínimos en el sedimento urinario o disminución del complemento sérico sin síntomas.

Estos cambios se observan con frecuencia en hermanos de pacientes con GNA. En la biopsia renal, en los casos típicos se observa edema e hiper celularidad glomerular con eritrocitos en el espacio de Bowman o en la luz tubular. El examen con inmunofluorescencia permite observar componentes del complemento con o sin inmunoglobulinas en un patrón globular.

Para establecer una etiología estreptocócica, es necesario documentar una infección estreptocócica previa o concurrente o una respuesta inmune a productos estreptocócicos. - Una gran mayoría de pacientes pueden presentar una respuesta serológica a SLO o ADNasa. Es importante buscar esta última en pacientes con impétigo, ya que la respuesta a SLO es pobre luego de una infección cutánea.

El periodo de latencia entre una infección estreptocócica y el desarrollo de nefritis es de 1 a 2 semanas luego de una faringitis y de 2 a 3 semanas luego de una infección cutánea.

Puede ocurrir hematuria durante el periodo de latencia tanto en pacientes que desarrollan como en pacientes que no desarrollan GNA clínica.

En lo referente a patogenia, los cúmulos granulares de inmunoglobulinas, que se observan característicamente con tinción inmunofluorescente, corresponden a los depósitos subepiteliales que se observan con microscopía electrónica. La respuesta inflamatoria posiblemente se debe al depósito de complejos inmunes dentro del riñón, aunque también puede desempeñar un papel la localización de componentes celulares o exotoxinas estreptocócicas.

Las cepas nefritógenas producen una proteína de peso molecular 50 000, que ha sido detectada recientemente en material de biopsia renal de pacientes con GNA.

#### 2.4. EPIDEMIOLOGIA DE LAS INFECCIONES CAUSADAS POR ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO "A".

Las enfermedades causadas por estreptococos del grupo A se hallan entre las infecciones bacterianas más frecuentes en

contradas por el hombre. La faringitis estreptocócica y el impétigo son las manifestaciones clínicas más comunes. Se desconoce la verdadera incidencia de estas infecciones. Sin embargo, es improbable que un niño llegue a los 10 años de edad sin haberse topado con estreptococos del grupo A. Los estudios de niños en edad escolar en busca de anticuerpos para estreptolisina O u otros exoproductos han demostrado que la mayoría tiene títulos significativos, indicando infección en los 3 a 6 meses previos. Las infecciones de las vías aéreas superiores ocurren más frecuentemente durante los meses de invierno, cuando aumentan también los portadores faríngeos y nasales. Los estreptococos del grupo A se transmiten primariamente por las gotitas de las secreciones respiratorias.

La transmisión por la leche y productos lácteos ha sido ampliamente controlada con la pasteurización. Sin embargo, pueden ocurrir epidemias explosivas luego de la contaminación de alimentos por individuos infectados. Las infecciones hospitalarias ocasionalmente son causadas por portadores anales o personal médico con lesiones cutáneas mínimas.

El pioderma estreptocócico (impétigo) es predominantemente una enfermedad de climas templados y ocurre con mayor frecuencia hacia fines del verano y comienzos del otoño. Se desconoce la forma exacta de transmisión. Los organismos colonizan primero la piel, antes de la infección clínicamente -

evidente, y luego secundariamente pueden colonizar en la faringe. Se ha sospechado pero no se ha demostrado la transmisión por vectores, como mosquitos o moscas.

**CAPITULO 3**  
**MATERIAL Y METODOS**

### 3.1. PROCEDENCIA Y SELECCION DE LA MUESTRA.

El trabajo de laboratorio estuvo dirigido a un grupo de 100 pacientes que fueron remitidos al Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Dr. Angel Leaño y al Laboratorio de Análisis Clínicos "Paraclinicos", para cultivo bacteriológico de exudado faringeo.

Para la realización de esta investigación no se tomó en cuenta ningún parámetro clínico.

### 3.2. METODOLOGIA MICROBIOLÓGICA.

#### 3.2.1. TOMA DE MUESTRA

Como es bien sabido la cavidad oral presenta una gran cantidad de microorganismos considerados como saprófilos ejemplo, Staphylococcus epidermidis, estreptococos alfa hemolíticos, especies de Neisseria, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, y numerosas especies de bacterias anaerobias, y fue por esta razón que la toma del exudado faringeo se hizo con extremo cuidado evitando tocar con los hisopos las paredes bucales, lengua o paladar.

Una vez que el paciente estuvo preparado para la toma de la muestra correspondiente, mediante una buena fuente de iluminación y la cavidad oral bien abierta, se procedió a se-

parar lo mejor posible la lengua usando un depresor de madera para inspeccionar conscientemente la faringe, amígdalas, pilares, etc., posteriormente se tomó la muestra con 3 hisopos estériles frotando firmemente el lugar sospechoso de infección procurando no contaminarlos con saliva.

Con uno de los hisopos se practicaron 2 frotis en porta objetos nuevos y plenamente identificados, los cuales se colorearon por el método de Gram.

Los otros 2 hisopos restantes se introdujeron en un medio de transporte (para este caso se utilizó el medio de -- Stuart) y después se realizó con ellos la siembra para el primoincubamiento.

### 3.2.2. MICROSCOPIA.

Una vez teñido el frotis mediante la coloración de Gram, se procedió a la observación microscópica con el objetivo de inmersión (100 X) del microscopio y se buscaron cocos gram positivos con tendencia a agruparse en cadenas.

### 3.2.3. PRIMOINCUBAMIENTO.

Cada una de las muestras de exudado faringeo sembraron en 3 placas con los diferentes medios:

1. Agar sangre de carnero al 5% (para la preparación del medio se utilizó una base de agar nutritivo y sangre de car-

- nero desfibrinada).
2. Agar sangre de carnero con colimicina y ácido nalidixico - (CNA).
  3. Agar sangre de carnero con sulfametoxazol y trimetoprim -- (medio de prueba).

Las placas se marcaron con el número correspondiente a cada muestra y con una pinza esterilizada a la flama se tomó uno de los 2 hisopos preservados en el medio de Stuart y ens<sup>g</sup>uida se procedió a sembrar los dos primeros medios (agar san<sup>g</sup>re de carnero y agar sangre de carnero con colimicina y áci<sup>d</sup>o nalidixico) mediante la técnica de aislamiento.

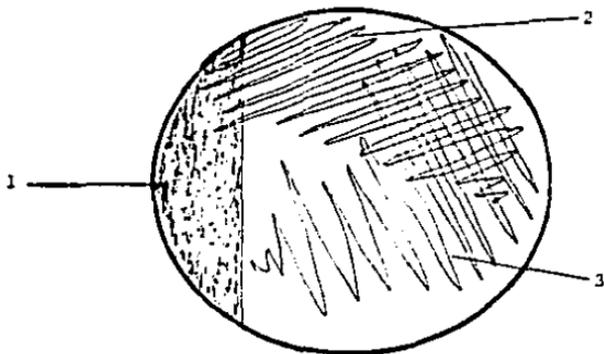
Cabe mencionar que estos dos medios antes citados son - los utilizados en el Laboratorio de Patología Clínica del Hos<sup>p</sup>ital Dr. Angel Leño en este tipo de muestras, mismos que me sirvieron para comparar éstos con el medio de prueba en cuanto a crecimiento bacteriano.

Esterilizada nuevamente la pinza a la flama, se pasó a tomar el hisopo restante en el medio de transporte y se sem<sup>br</sup>ó el último de los medios (el agar sangre de carnero con -- sulfametoxazol y trimetoprim) utilizando la misma técnica de aislamiento.

El modo de sembrar las placas fue el siguiente: El hiso<sup>p</sup>

po se hacía rodar por completo sobre 1/6 de cada una de las -  
cajas petri, y mediante un asa con la punta en aro se proce--  
día a dispersar el inóculo mediante la técnica antes menciona  
da como se muestra en la figura 2.

FIGURA 2



## METODO DE SIEMBRA POR AISLAMIENTO

- 1) Inóculo primario con hisopo
- 2) y 3) Estrías con asa

Para hacer las estrías del número dos se debe quemar el  
asa al igual que para hacer las estrías del número tres.

Una vez sembradas las placas se incubaron a 37 grados -

centígrados y una atmósfera de 5-10% de  $\text{CO}_2$  que se obtuvo mediante el sistema de la vela encendida en el brocal, durante 24 horas.

#### 3.2.4. EVALUACION CUANTITATIVA DEL CRECIMIENTO MICROBIA NO.

Después de este período de incubación se revisaron las placas buscando las colonias típicas del estreptococo beta hemolítico (finas, con hemólisis completa) observando en cual de las tres placas se obtenía mejor desarrollo y beta hemólisis y en cual se inhibía más la flora normal de orofaringe. Se llevó a cabo la evaluación del crecimiento microbiano y los estándares que se usaron para dicha evaluación fueron - los siguientes: (tabla No. 1).

TABLA No. 1 MANERA DE CUANTIFICAR EL CRECIMIENTO BACTERIANO.

CRECIMIENTO	SECTOR I	SECTOR II	SECTOR III	
Negativo	No crecimiento	No crecimiento	No crecimiento	
Escasa cantidad 1+	Colonias aisladas (3-30 colonias)	No crecimiento	No crecimiento	
Moderada cantidad 2+	CreCIMIENTO con- fluyente (abundan- tes colonias)	Colonias aisladas	No crecimiento	
Abundante cantidad 3+	CreCIMIENTO con- fluyente (abundan- tes colonias)	CreCIMIENTO con- fluyente. (abundan- tes colonias).	Colonias aisla- das.	
Muy abundante can- tidad 4+	CreCIMIENTO con- fluyente.	CreCIMIENTO con- fluyente.	CreCIMIENTO con- fluyente (muchas colonias aisladas)	

La evaluación cuantitativa del crecimiento microbiano - se llevó a cabo en cada una de las 3 placas sembradas y se reportó el crecimiento de la flora normal de orofaringe tanto - como de las colonias sospechosas (beta hemolíticas con características de estreptococos).

Además se midió el diámetro de la colonia y de la hemólisis de las colonias sospechosas.

Se practicó un frotis de las colonias sospechosas, el - cual se tiñó por la coloración de Gram para confirmar la morfología (cocos gram positivos agrupados en cadena).

Preparación del agar sangre de carnero con sulfametoxazol y trimetoprim (medio de experimentación).

El agar sangre de carnero se preparó de la siguiente manera:

Se disolvió el agar tripticase soya en agua destilada y desmineralizada y enseguida se procedió a esterilizar a 15 -- lbs. de presión durante 15 minutos; una vez pasado este tiempo, dejamos enfriar hasta aproximadamente 40 grados centígrados para después agregar 5% de sangre de carnero desfibrinada.

El agar sangre de carnero con sulfametoxazol y trimetoprim (SXT-SA) se preparó adicionando 1 ml. de solución stock- (antibiótico) a un litro de agar sangre de carnero. Ensegui-

da se procede a vaciar en las placas el medio aproximadamente 5 ml. por caja de petri.

La solución stock que contiene los antibióticos se prepara combinando partes equivalentes de solución A con solución B.

La solución A se obtiene disolviendo 0.125 g. de trimetoprim en pocos mililitros de HCL 0.1N y después llevar a 50-ml. con agua destilada.

La solución B se prepara disolviendo 2.375 g de sulfametoxazol en pocos mililitros de NaOH 1.0N y se lleva a 50 ml.- con agua destilada.

NOTA: Las cantidades de agar tripticase soya, de agua destilada y desmineralizada, de sangre de carnero y de solución stock empleadas en la preparación de este medio, varían según sea la cantidad (de medio) que se desea preparar; para esto se debe tomar en cuenta lo siguiente:

Emplear 40 g de agar tripticase soya para 1000 ml de medio.

5t de sangre desfibrinada de carnero (5 ml. de sangre por cada 100 ml. de medio).

1 ml. de solución stock por cada 1000 ml. de medio.

Para la preparación de la solución A y solución B se debe tomar en cuenta la pureza del HCL y NaOH respectivamente - al igual que la densidad que marque el frasco del reactivo empleado.

Considerando lo anterior se deben hacer los cálculos correspondientes.

### 3.2.5. REAISLAMIENTO.

Las colonias sospechosas (beta hemolíticas y cocos gram positivos) del estreptococo grupo A, se sembraron en placas de agar sangre para obtener un cultivo puro de ellas.

Mediante un asa en punta esterilizada a la flama del mechero y enfriada en el agar, se tomó de la colonia un pequeño inóculo y se sembró en el agar sangre por el método de estricción. Las condiciones a las que se sometió fueron las mismas en las que se obtuvo. Se incubó a 37 grados centígrados y -- 5 - 10% de CO<sub>2</sub> durante 24 horas, después de este tiempo se revisaron verificando la beta hemólisis, morfología colonial y celular.

### 3.2.6. IDENTIFICACION DEL GRUPO.

Después de la obtención del cultivo puro, se procedió a realizar la prueba de la Bacitracina 0.04u. (Taxo A)-

que fue la elegida para la identificación presuntiva del estreptococo grupo A. Simultanea a ésta se practicó también la prueba de Camp, para descartar el grupo B que es positivo a ésta.

Para la realización de la prueba de la bacitracina se usaron sensidiscos diferenciales de 0.04 u. del antibiótico (Difco) y el cultivo puro de los microorganismos sospechosos.

Se tomó del cultivo puro un inóculo abundante con un asa con la punta en aro y se sembró sobre una placa de agar -- sangre haciendo las estrías como se muestra en la figura número 3.



FIGURA No. 3  
MODO DE SIEMBRA Y COLOCACION DEL DISCO  
EN LA PRUEBA DE LA BACITRACINA

Mediante unas pinzas desinfectadas con alcohol y flameadas, se tomó el disco de bacitracina por un extremo colocándolo en una zona donde no estuviera muy cargada con la muestra.

La placa se sometió a las mismas condiciones de cultivo (37 grados centígrados, 5-10% de CO<sub>2</sub> durante 24 horas).

Cualquier zona de inhibición alrededor del sensidisco - se tomó como resultado positivo y la ausencia de zonas de - - inhibición significó que el cultivo era resistente por lo tanto no grupo A según el criterio de Maxted.

Cabe mencionar que esta prueba predice con una seguridad del 95% la identificación presuntiva de este grupo.

Simultánea a esta prueba se realizó la prueba de Camp.- Se trazó una estría de estreptococos (por identificar) en forma perpendicular a otra estría de una cepa de Staphylococcus aureus conocida como productora de la beta lisina. Ambas líneas no deben tocarse. El medio en que se realizó esta prueba fue agar sangre de carnero, mismo que se incubó a 37 grados centígrados, 5-10% de CO<sub>2</sub> durante 24 horas.

Esta prueba está basada en la actividad hemolítica de - la beta lisina estafilocócica sobre los eritrocitos ya que se ve intensificada por un factor extracelular producido por es--

treptococos del grupo B, llamado factor Camp. Por lo tanto, toda vez que dos reactantes se superponen en una placa de agar sangre de carnero se advierte una intensificación de la reacción beta hemolítica.

Interpretación: Como se ilustra en la figura No. 4 la zona de intensificación de lisis asume la forma de una cabeza de flecha en la intersección de ambas estrias. Cualquier estreptococo bacitracina negativo, Camp positivo, bilis-esculina negativo, puede ser informado como estreptococo grupo B, presuntivo por Camp.

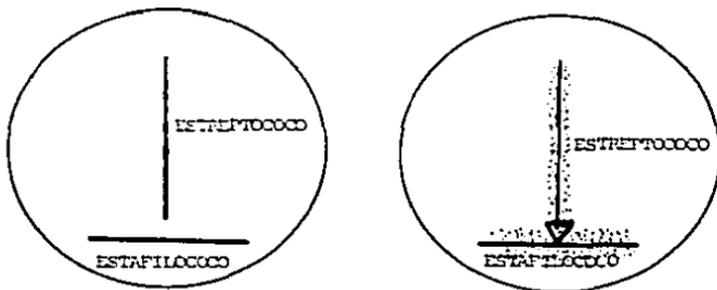
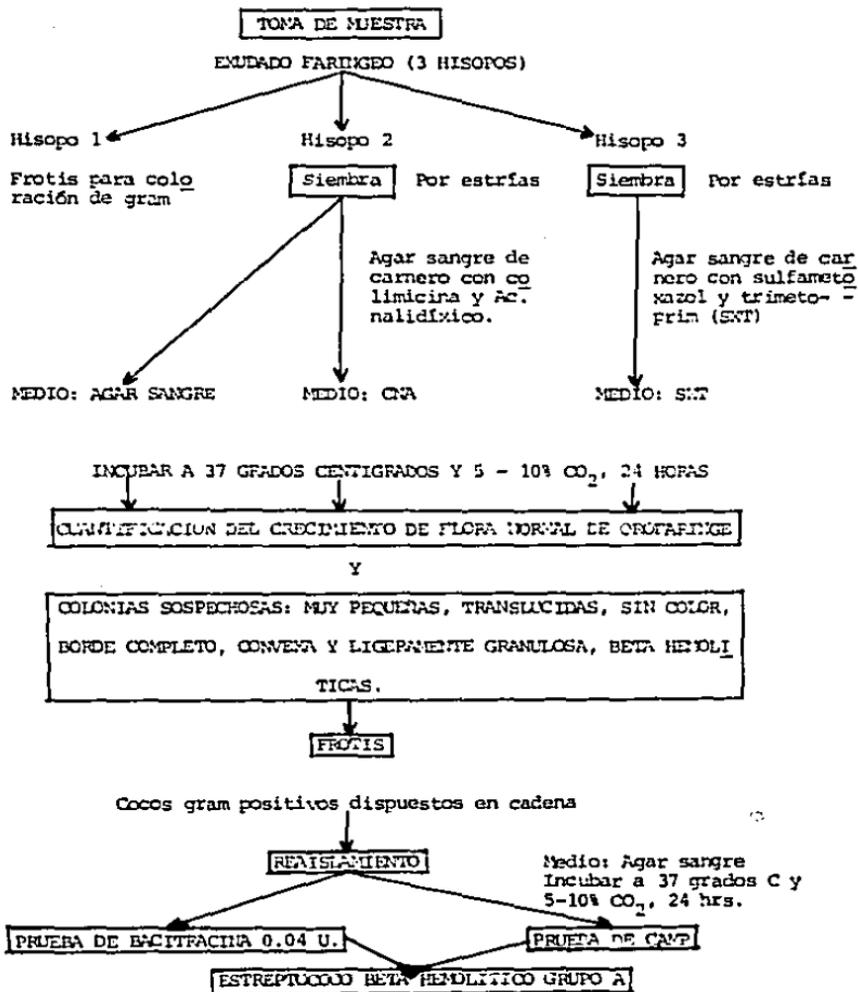


FIGURA No. 4

Cuando las pruebas de bacitracina y de Camp resultaron negativas, se reportó estreptococos beta hemolíticos grupo - no A no B.

# ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

## GRÁFICA DEL PLAN DE TRABAJO



CAPITULO 4

RESULTADOS

## RESULTADOS

Tomando en cuenta que se procesaron 100 muestras de exudados faringeos, se obtuvieron los siguientes resultados:

70%.....No desarrollaron beta hemólisis.

3%.....Presentaron colonias beta hemolíticas, catalasa: positivas.

27%.....Presentaron colonias beta hemolíticas, catalasa: negativas (Género: Streptococcus)

---

100%: TOTAL

En la tabla No. 2 se muestra el crecimiento bacteriano-obtenido tanto en el medio de prueba (SXT), como en los medios de comparación (CNA y gelosa sangre) a las 24 y 48 horas de haberse sembrado.

TABLA No. 2. Crecimiento bacteriano en los medios de SXT, CNA y GS a las 24 y 48 horas de haberse sembrado bajo unas condiciones de cultivo de 37 grados centígrados y 5 - 10% de CO<sub>2</sub>.

NÚMERO DE MUESTRA	GELOSA SANGRE GS	CNA	SXT	
1	3X FNO 3X FNO	3X FNO 3X FNO	2X FNO 3X FNO	24 hrs. 48 hrs.
2	1X FNO 1X FNO	1X FNO 1X FNO	1X FNO 1X FNO	24 hrs. 48 hrs.
3	1X FNO 2X FNO	1X FNO 2X FNO	1X FNO 1X FNO	24 hrs. 48 hrs.
4	3X FNO 3X CBH C(P) 3X FNO	3X FNO 3X FNO	2X CBH 2X FNO 2X CBH C(N) 2X FNO	24 hrs. 48 hrs.
5	3X FNO 3X FNO	3X FNO 3X FNO	2X FNO 2X FNO	24 hrs. 48 hrs.
6	3X FNO 3X FNO	3X FNO 3X FNO	3X FNO 2X CBH C(P) 3X FNO	24 hrs. 48 hrs.
7	1X FNO 1X FNO	1X FNO 1X FNO	1X FNO 1X FNO	24 hrs. 48 hrs.
8	3X FNO 3X FNO	3X FNO 3X FNO	3X FNO 3X FNO	24 hrs. 48 hrs.

NUMERO DE MUESTRA	GELOSA SANGRE GS	CIA	SXT	
9	2X FNO	3X FNO	1X FNO	24 hrs.
	2X FNO	3X FNO	1X FNO	48 hrs.
10	1X FNO	1X FNO	1X FNO	24 hrs.
	1X FNO	1X FNO	1X FNO	48 hrs.
11	2X FNO	2X FNO	1X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	1X FNO	48 hrs.
12	2X FNO	2X FNO	1X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	1X FNO	48 hrs.
13	2X FNO	1X FNO	1X FNO	24 hrs.
	2X FNO	1X FNO	1X FNO	48 hrs.
14	1X CBH C(N)	1X CBH C(N)	Sin desa-	24 hrs.
	1X FNO	1X FNO	rrollo	
	1X FNO	1X FNO	Sin desa-	48 hrs.
	1X CBH C(N)	1X CBH C(N)	rrollo	
15	1X CBH C(N)	1X FNO	1X CBH C(N)	24 hrs.
	1X FNO		1X FNO	
	1X CBH	1X FNO	1X CBH	48 hrs.
	1X FNO		1X FNO	
16	3X FNO	2X FNO	2X FNO	24 hrs.
	3X FNO	2X FNO	2X FNO	48 hrs.
17	1X FNO	1X FNO	2X FNO	24 hrs.
	1X FNO	1X FNO	2X FNO	48 hrs.
18	2X FNO	2X FNO	2X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	2X FNO	48 hrs.

NUMERO DE MUESTRA	GELOSA SANGRE GS	C/A	SXT	
19	2X FNO	2X FNO	2X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	2X FNO	48 hrs.
20	2X FNO	2X FNO	Sin desarrollo	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	Sin desarrollo	48 hrs.
21	3X FNO	3X FNO	3X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	3X FNO	48 hrs.
22	3X CBH C(N)	3X CBH C(N)	3X CBH C(N)	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	2X FNO	
	3X CBH	3X CBH	3X CBH	48 hrs.
	3X FNO	3X FNO	2X FNO	
23	1X CBH C(N)	1X CBH C(N)	2X FNO	24 hrs.
	1X FNO	1X FNO		
	1X CBH	1X CBH	2X FNO	48 hrs.
	1X FNO	1X FNO		
24	3X FNO	3X FNO	2X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	2X FNO	48 hrs.
25	3X FNO	3X FNO	3X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	3X FNO	48 hrs.
26	3X FNO	3X FNO	2X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	2X FNO	48 hrs.
27	2X FNO	2X FNO	2X FNO	24 hrs.
	2X CBH C(N)	2X CBH C(N)		
	2X FNO	2X FNO	2X FNO	48 hrs.
	2X CBH	2X CBH		

NÚMERO DE MUESTRA	GELOSA SANGRE GS	CVA	SXT	
28	2X FNO	2X FNO	1X FNO	24 hrs.
	2X CBH C(N)	2X CBH C(N)		
	2X FNO	2X FNO	1X FNO	48 hrs.
	2X CBH	2X CBH		
29	2X FNO	2X FNO	1X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	1X FNO	48 hrs.
30	3X FNO	3X FNO	2X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	2X FNO	48 hrs.
31	3X FNO	3X FNO	3X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	3X FNO	48 hrs.
32	3X FNO	3X FNO	2X FNO	24 hrs.
			2X CBH C(N)	
	3X FNO	3X FNO	2X FNO	48 hrs.
			2X CBH	
33	3X FNO	3X FNO	3X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	3X FNO	48 hrs.
34	3X FNO	3X FNO	3X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	3X FNO	48 hrs.
35	3X FNO	3X FNO	2X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	2X FNO	48 hrs.
36	3X FNO	3X FNO	3X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	3X FNO	48 hrs.
37	2X FNO	2X FNO	1 X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	1X FNO	48 hrs.

NUMERO DE MUESTRA	GELOSA SANGRE GS	CNA	SNT	
38	3X FNO	3X FNO	2X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	2X FNO	48 hrs.
39	2X FNO	2X FNO	2X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	2X FNO	48 hrs.
40	3X FNO	3X FNO	2X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	2X FNO	48 hrs.
41	2X FNO	2X FNO	2X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	2X FNO	48 hrs.
42	2X FNO	2X FNO	1X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	1X FNO	48 hrs.
43	2X FNO	2X FNO	3X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	3X FNO	48 hrs.
44	3X FNO	3X FNO	Sin desarrollo	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	Sin desarrollo	48 hrs.
45	2X FNO	2X FNO	2X FNO	24 hrs.
			1X CBH C(P)	
	2X FNO	2X FNO	2X FNO 1X CBH	48 hrs.
46	2X FNO	2X FNO	3X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	3X FNO	48 hrs.
47	2X FNO	2X FNO	1X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	1X FNO	48 hrs.

NUMERO DE MUESTRA	GELOSA SANGRE GS	CS	SXT	
48	2X FNO	2X FNO	2X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	2X FNO	48 hrs.
49	2X FNO	2X FNO	1X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	1X FNO	48 hrs.
50	2X FNO	2X FNO	1X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	1X FNO	48 hrs.
51	3X CBH C(N)	3X CBH C(N)	2X CBH C(N)	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	2X FNO	
	3X CBH	3X CBH	2X CBH	48 hrs.
	2X FNO	2X FNO	2X FNO	
52	2X FNO	2X FNO	2X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	2X FNO	48 hrs.
53	2X FNO	2X FNO	1X FNO	24 hrs.
	2X FNO	2X FNO	1X FNO	48 hrs.
54	3X FNO	3X FNO	2X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	3X FNO	48 hrs.
55	3X FNO	3X FNO	3X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	3X FNO	48 hrs.
56	3X FNO	3X FNO	2X FNO	24 hrs.
	3X FNO	3X FNO	3X FNO	48 hrs.
57	2X CBH C(N)	2X CBH C(N)	4X FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO		
	2+ CBH	2X CBH	4+ FNO	48 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO		

NUMERO DE MUESTRA	GELOSA SANGRE GS	CSA	SXT	
55	2+ CBH C(N)	2+ CBH C(N)	2+ CBH C(N)	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	
	2+ CBH	2+ CBH	2+ XBH	48 hrs
	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	
59	2+ CBH C(N)	2+ CBHC(N)	2+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO		
	2+ CBH	2+ XBH	2+ FNO	48 hrs
	3+ FNO	3+ FNO		
60	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
61	2+ FNO	2+ FNO	1X FNO	24 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO	1X FNO	48 hrs.
62	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
63	2+ CBH C(N)	2+ CBH C(N)		24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	
	2+ CBH	2+ CBH		48 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	
64	3+ FNO	3+ FNO	2+ CBH C(N)	24 hrs.
			2+ FNO	
	3+ FNO	3+ FNO	2+ CBH 2+ FNO	48 hrs.
65	3+ FNO	3+ FNO	1+ CBH C(N)	24 hrs.
			2+ FNO	
	3+ FNO	3+ FNO	1+ CBH 2+ FNO	48 hrs.

NUMERO DE MUESTRA	GELOGA SANGRE CS	CIA	SXT	
66	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
67	4+ FNO	4+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	4+ FNO	4+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
68	3+ FNO	3+ FNO	3+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	3+ FNO	48 hrs.
69	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	3+ CBH C(P)	3+ CBH C(P)		
	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
	3+ CBH C(P)	3+ CBH C(P)		
70	2+ CBH C(N)	2+ CBH C(N)	1+ CBH C(N)	24 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	
	2+ CBH	2+ CBH	1+ CBH	48 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	
71	2+ FNO	2+ FNO	1+ FNO	24 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO	1+ FNO	48 hrs.
72	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
73	2+ CBH C(N)	2+ CBH C(N)	2+ FNO	24 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO		
	2+ CBH	2+ CBH	2+ FNO	48 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO		
74	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	48 hrs.

NUMERO DE MUESTRA	GELOSA SANGRE GS	CNA	SXT	
75	3+ CBH C(N) 3+ FNO 3+ CBH 3+ FNO	3+ CBH C(N) 3+ FNO 3+ CBH 3+ FNO	2+ FNO  2+ FNO	24 hrs.  48 hrs.
76	3+ FNO 3+ FNO	3+ FNO 3+ FNO	2+ FNO 2+ FNO	24 hrs. 48 hrs.
77	2+ CBH C(N) 3+ FNO 2+ CBH 3+ FNO	2+ CBHC(N) 3+ FNO 2+ CBH 3+ FNO	2+ FNO  2+ FNO	24 hrs.  48 hrs.
78	2+ CBH C(N) 3+ FNO 2+ CBH 3+ FNO	2+ CBHC(N) 3+ FNO 2+ CBH 3+ FNO	2+ FNO  2+ FNO	24 hrs.  48 hrs.
79	3+ FNO 3+ FNO	3+ FNO 3+ FNO	2+ FNO 2+ FNO	24 hrs. 48 hrs.
80	2+ FNO 2+ FNO	2+ FNO 2+ FNO	3+ FNO 3+ FNO	24 hrs. 48 hrs.
81	2+ FNO 2+ FNO	2+ FNO 2+ FNO	1+ FNO 1+ FNO	24 hrs. 48 hrs.
82	2+ CBH C(N) 3+ FNO 2+ CBH 3+ FNO	2+ CBHC(N) 3+ FNO 2+ CBH 3+ FNO	2+ CBH C(N) 3+ FNO 2+ CBH 3+ FNO	24 hrs.  48 hrs.
83	2+ FNO 2+ FNO	2+ FNO 2+ FNO	1+ FNO 1+ FNO	24 hrs. 48 hrs.

NUMERO DE MUESTRA	GELOSA SANGRE GS	CNA	SAT	
84	3+ FNO	3+ FNO	2+ CBH C(N)	24 hrs.
			2+ FNO	
	3+ FNO	3+ FNO	2+ CBH	48 hrs.
			2+ FNO	
85	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
86	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
87	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
88	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
89	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
90	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
91	3+ CBH C(N)	3+ CBHC(N)	2+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO		
	3+ CBH	3+ CBH	2+ FNO	48 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO		
92	3+ FNO	3+ FNO	1+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	1+ FNO	48 hrs.
93	2+ CBH C(N)	2+ CBHC(N)	2+ FNO	24 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO		
	2+ CBH	2+ CBH	2+ FNO	48 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO		

NUMERO DE MUESTRA	GELOSA SANGRE GS	CIA	SNT	
94	3+ FNO	3+ FNO	3+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	3+ FNO	48 hrs.
95	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
96	2+ CBH C(N)	2+ CBHC(N)	2+ CBH C(N)	24 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	
	2+ CBH	2+ CBH	2+ CBH	48 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO	2+ FNO	
97	3+ FNO	3+ FNO	2+ CBH C(N)	24 hrs.
			2+ FNO	
	3+ FNO	3+ FNO	2+ CBH	48 hrs.
		2+ FNO		
98	2+ CBH C(N)	2+ CBHC(N)	2+ FNO	24 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO		
	2+ CBH	2+ CBH	2+ FNO	48 hrs.
	2+ FNO	2+ FNO		
99	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	2+ FNO	48 hrs.
100	3+ FNO	3+ FNO	1+ FNO	24 hrs.
	3+ FNO	3+ FNO	1+ FNO	48 hrs.

FNO: Flora normal de orofaringe.

CBH: Colonias beta hemolíticas (de cocos gram positivos).

C(P): Catalasa positivas.

C(N): Catalasa negativas.

En cuanto a la determinación de la beta hemólisis, en la tabla No. 3 se muestran dichos resultados, donde se muestra solamente aquellas muestras que dieron la hemólisis en alguno de los medios de cultivo.

TABLA No. 3. CUANTIFICACION DE LA PRODUCCION BETA HEMOLISIS - EN LAS MUESTRAS QUE LA PRESENTARON EN LOS MEDIOS USADOS: GS, CNA Y SXT (MEDIO DE PRUEBA)

NUESTRA NUMERO	GELOSA SANGRE GS	CNA	SXT
4	3+ CBH	No CBH	2+ CBH
6	No CBH	No CBH	2+ CBH
14	1+ CBH	1+ CBH	No CBH
15	1+ CBH	No CBH	1+ CBH
22	3+ CBH	3+ CBH	3+ CBH
23	1+ CBH	1+ CBH	No CBH
27	2+ CBH	2+ CBH	No CBH
28	2+ CBH	2+ CBH	No CBH
32	No CBH	No CBH	2+ CBH
45	No CBH	No CBH	1+ CBH
51	3+ CBH	3+ CBH	2+ CBH
57	2+ CBH	2+ CBH	No CBH
58	2+ CBH	2+ CBH	2+ CBH
59	2+ CBH	2+ CBH	No CBH
63	2+ CBH	2+ CBH	No CBH
64	No CBH	No CBH	2+ CBH
65	No CBH	No CBH	1+ CBH
69	3+ CBH	3+ CBH	No CBH
70	2+ CBH	2+ CBH	1+ CBH
73	2+ CBH	2+ CBH	No CBH
75	3+ CBH	3+ CBH	No CBH
77	2+ CBH	2+ CBH	No CBH

MUESTRA NUMERO	GELOSA SANGRE GS	CNA	SMT
78	2+ CBH	2+ CBH	No CBH
82	2+ CBH	2+ CBH	2+ CBH
84	No CBH	No CBH	2+ CBH
91	3+ CBH	3+ CBH	No CBH
93	2+ CBH	2+ CBH	No CBH
96	2+ CBH	2+ CBH	2+ CBH
97	No CBH	No CBH	2+ CBH
98	2+ CBH	2+ CBH	No CBH

CBH: Colonias beta hemolíticas.

No CBH: No presentó colonias beta hemolíticas.

Se procedió a descartar bacterias gram positivas del género Staphylococcus (que también son beta hemolíticas) mediante la prueba de la catalasa, resultados que se muestran en la tabla No. 4.

TABLA No. 4 RESULTADOS DEL AISLAMIENTO DE LAS COLONIAS BETA HEMOLITICAS Y PRUEBA DE LA CATALASA.

MUESTRA NUMERO	GS	CNA	SMT
4	C (P)	-	C (N)
6	-	-	C (P)
14	C (N)	C (N)	-
15	C (N)	-	C (N)
22	C (N)	C (N)	C (N)
23	C (N)	C (N)	-
27	C (N)	C (N)	-
28	C (N)	C (N)	-
32	-	-	C (N)
45	-	-	C (P)
51	C (N)	C (N)	C (N)
57	C (N)	C (N)	-
58	C (N)	C (N)	C (N)
59	C (N)	C (N)	-
63	C (N)	C (N)	-
64	-	-	C (N)
65	-	-	C (N)
69	C (P)	C (P)	-
70	C (N)	C (N)	C (N)
73	C (N)	C (N)	-
75	C (N)	C (N)	-
77	C (N)	C (N)	-
78	C (N)	C (N)	-

MUESTRA NUMERO	GS	CNA	SXT
82	C (N)	C (N)	C (N)
84	-	-	C (N)
91	C (N)	C (N)	-
93	C (N)	C (N)	-
96	C (N)	C (N)	C (N)
97	-	-	C (N)
98	C (N)	C (N)	-

C (P): Catalasa positivas.

C (N): Catalasa negativa (Género Streptococcus)

- : No presentaron colonias beta hemolíticas.

En la tabla No. 5 se muestran los resultados de las - - pruebas para identificar las especies de Streptococcus mediante la sensibilidad a Bacitracina y Camp.

TABLA No. 5 PRUEBA DE LA BACITRACINA (TAXO A), PRUEBA DE CAMP Y GRUPO ANTIGENICO DE LANCEFIELD DE LAS 27 COLONIAS - QUE RESULTARON SER CATALASA NEGATIVAS.

MUESTRA NUMERO	PRUEBA DE LA BACITRACINA TAXO A	PRUEBA DE CAMP	GRUPO ANTIGENICO DE LANCEFIELD
4	Positiva	Negativa	A
14	Negativa	Negativa	No A ni B
15	Negativa	Negativa	No A ni B
22	* GS y CIA: Positiva SXT: Negativa	* GS y CIA: negativa SXT: negativa	* GS y CIA: A SXT: no A ni B
23	Negativa	Negativa	No A ni B
27	Positiva	Negativa	A
28	Negativa	Negativa	No A ni B
32	Positiva	Negativa	A
51	** GS y CIA: Positiva Negativa SXT: Positiva	** GS y CIA: Negativa Positiva SXT Negativa	** GS y CIA: A B SXT: A
57	Negativa	Negativa	No A ni B
58	*** GS y CIA: Negativa SXT Positiva	*** GS y CIA: Negativa SXT: Negativa	***GS y CIA: No A ni B SXT: A
59	Negativa	Negativa	No A ni B
63	Negativa	Negativa	No A ni B
64	Negativa	Positiva	B
65	Positiva	Negativa	A
70	Positiva	Negativa	A
73	Negativa	Negativa	No A ni B
75	Negativa	Negativa	No A ni B
77	Positiva	Negativa	A

MUESTRA NUMERO	PRUEBA DE LA BACITRACINA TAXO A	PRUEBA DE CAMP	GRUPO ANTIGENICO DE LANCEFIELD
78	Positiva	Negativa	A
82	Positiva	Negativa	A
54	Positiva	Negativa	A
91	Positiva	Negativa	A
93	Negativa	Negativa	No A ni B
96	Positiva	Negativa	A
97	Positiva	Negativa	A
98	Negativa	Negativa	No A ni B

- \* En la muestra # 22 en los medios de comparación (GS y CNA) - se aisló *Streptococo* beta hemolítico del grupo A, y en el medio de prueba (SXT) se aisló *Streptococo* beta hemolítico grupo no A ni B.
- \*\* En la muestra # 51 en los medios de comparación (GS y CNA) se aislaron *Streptococos* beta hemolíticos del grupo A y - del grupo B (se trabajaron 2 colonias diferentes), mientras que en el medio de prueba (SXT) se aisló *Streptococo* beta hemolítico del grupo A.
- \*\*\* En la muestra # 58 en los medios de comparación (GS y CNA) se aisló *Streptococo* beta hemolítico del grupo no A ni B mientras que en el medio de prueba se aisló *Streptococo* beta hemolítico del grupo A.

NOTA: En las muestras donde no aparecen asteriscos, significa que tanto en los medios de comparación como en el de -- prueba se aisló el mismo grupo de Estreptococo.

Relacionando las tablas números 3, 4 y 5, y poniendo especial atención en las 27 muestras que mostraron colonias beta hemolíticas (catalasa; negativas); se pueden observar los siguientes resultados:

EN EL MEDIO SXT (MEDIO DE PRUEBA):

- Se aisló Streptococcus beta hemolítico del grupo A en 10 de las muestras tratadas.
- Se aisló Streptococcus beta hemolítico del grupo B en 1 de las muestras tratadas.
- Se aisló Streptococcus beta hemolítico del grupo no A ni B en 2 de las muestras tratadas.

EN GELOSA SANGRE (GS):

- Se aisló Streptococcus beta hemolítico del grupo A en 9 de las muestras tratadas.
- Se aisló Streptococcus beta hemolítico del grupo B en 1 de las muestras tratadas.
- Se aisló Streptococcus beta hemolítico del grupo no A ni B en 12 de las muestras tratadas.

## EN CNA:

- Se aisló Streptococcus beta hemolítico del grupo A en 9 de las muestras tratadas.
- Se aisló Streptococcus beta hemolítico del grupo B en 1 de las muestras tratadas.
- Se aisló Streptococcus beta hemolítico del grupo no A ni B en 11 de las muestras tratadas.

Haciendo un poco más esquemático los aislamientos en -- los diferentes medios, tenemos:

EN SXT: 10 SBHGA	EN GS: 9 SBHGA	EN CNA: 9 SBHGA
1 SBHGB	1 SBHGB	1 SBHGB
2 SBHGnoAniB	12 SBHGnoAniB	11 SBHGnoAniB

SBHGA....Streptococcus beta hemolítico del grupo A.

SBHGB....Streptococcus beta hemolítico del grupo B.

SBHG no A ni B....Streptococcus beta hemolítico del grupo no A ni B.

TABLA No. 6 RELACION DEL NUMERO DE MUESTRAS QUE PRESENTARON  
LOS DIFERENTES CRECIMIENTOS EN LOS MEDIOS USADOS.

	GS	CNA	SXT
4+ FNO	1	1	1
3+ FNO	52	52	18
2+ FNO	40	39	55
1+ FNO	7	8	23
3+ CBHCP	2	1	0
2+ CBHCP	0	0	1
1+ CBHCP	0	0	1
3+ SBHGA	3	3	0
2+ SBHGA	6	6	8
1+ SBHGA	0	0	2
3+ SBHGB	1	1	0
2+ SBHGB	0	0	1
1+ SBHGB	0	0	0
3+ SBHG no A ni B	1	1	1
2+ SBHG no A ni B	8	8	0
1+ SBHG no A ni B	3	2	1

FNO: Flora normal de orofaringe.

CBHCP: Colonias beta hemolíticas, catalasa: positivas.

NOTA: Cabe mencionar que en 3 de las muestras tratadas no hubo desarrollo en el medio de prueba (SXT).

TABLA No. 7 CRECIMIENTO DE Streptococcus BETA HEMOLITICO DEL GRUPO A EN LOS MEDIOS DE SXT, GS Y CNA, EN LAS 10 MUESTRAS QUE LO PRESENTARON EN EL MEDIO DE PRUEBA Y CARACTERISTICAS COLONIALES OBTENIDAS EN DICHO - MEDIO.

MUESTRA NUMERO	GS Y CIA (Medios de comparación)	SXT (Medio de prueba)	CARACTERISTICAS COLONIALES EN SXT
4	3+	2+	Convexas, cristalinas y borde regular. Diámetro colonia: 0.5 mm. Diámetro hemólisis: 4 mm.
32	Negativo	2+	Convexas, cristalinas y borde regular. Diámetro colonia: 0.5 mm. Diámetro hemólisis: 2 mm.
51	3+	2+	Convexas, cristalinas y borde regular. Diámetro colonia: menor a 0.5 mm Diámetro hemólisis: 1.5 mm
58	2+	2+	Convexas, cristalinas y borde regular. Diámetro colonia: 0.5 mm. Diámetro hemólisis: 1 mm.
65	Negativo	1+	Convexas, cristalinas y borde regular. Diámetro colonia: 1 mm. Diámetro hemólisis: 2 mm.

MUESTRA NÚMERO	GS Y CIA (Medios de comparación)	SXT (Medio de prueba)	CARACTERÍSTICAS COLONIALES EN SXT
70	2+	1+	Poco convexas, cristalinas y borde regular. Diámetro colonia: 0.5 mm. Diámetro hemólisis: 1.5 mm.
82	2+	2+	Convexas, cristalinas y borde entero. Diámetro colonia: 1 mm. Diámetro hemólisis: 4 mm
84	Negativo	2+	Convexas, cristalinas y borde regular. Diámetro colonia: 0.5 mm. Diámetro hemólisis: 2 mm.
96	2+	2+	Convexas, cristalinas y borde regular. Diámetro colonia: 0.5 mm. Diámetro hemólisis: 2 mm.
97	Negativo	2+	Convexas, cristalina y borde regular. Diámetro colonia: 0.5 mm. Diámetro hemólisis: 2 mm.

NEGATIVO: No hubo crecimiento de Streptococcus beta hemolítico del grupo A.

**CAPITULO 5**  
**CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

Basándonos en la tabla No. 7 podemos observar que el crecimiento de Streptococcus beta hemolítico del grupo A, fue mayor en el medio de SXT en un 40% del total de las 10 muestras mencionadas; en un 30% el crecimiento fue igual en SXT y los medios de comparación, y en un 30% el crecimiento fue mayor en los medios de comparación (GS y CNA).

Cabe mencionar que el medio SXT (medio de prueba) inhibió más el crecimiento de la flora normal de orofaringe en aproximadamente 1+, que los medios de GS y CNA, en un 58% de las 100 muestras tratadas para esta investigación, ejemplo: - Si en los medios de comparación se obtuvo 2+ de FNO (flora normal de orofaringe), en SXT se obtuvo 1+ FNO para la misma muestra. (Revísese tabla No. 2).

Después de analizar detenidamente los resultados de esta investigación, se puede concluir que el medio de agar sangre de carnero conteniendo sulfametoxazol y trimetoprim:

1. Es altamente selectivo para el Streptococcus beta hemolítico del grupo A.
2. Inhibe más el crecimiento de la flora normal de orofaringe que los medios rutinariamente usados en los laboratorios hospitalarios y particulares, como el gelosa sangre y el -

agar sangre de cordero conteniendo colimicina y ácido nalidixico (CNA).

3. Es muy importante utilizar las cantidades exactas que se mencionan para la preparación de este medio (SXT).
4. Es fácil de preparar, ya que requiere de una simple base de agar sangre y sales fácilmente conseguibles en el mercado.
5. El uso de este medio en la siembra rutinaria de exudados faríngeos para la búsqueda de Streptococcus del grupo A, sería de gran provecho tanto para el médico, el químico, como para el paciente ya que mejora el aislamiento de las colonias sospechosas por su gran poder inhibitorio de la flora normal de orofaringe y su especificidad de grupo. Esto permite ahorrar tiempo y costo, y facilita el trabajo de laboratorio permitiendo de esta manera, evitar los reportes de falsos negativos por enmascaramiento y permitiendo además al médico el tratamiento rápido del paciente.

Es muy importante detectar e identificar plenamente al Streptococcus del grupo A para combatirlo y evitar de esta manera las secuelas que tan alto índice de mortalidad presentan.

**CAPITULO 6**  
**BIBLIOGRAFIA**

## BIBLIOGRAFIA

1. Breed, Robert S. Murray, E.G.D. et al. BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY. Seventh Edition, Baltimore 2, Md., U.S.A., The Williams & Wilkins Company, 1957.
2. Carlson, James R. Merz, William G. et al. 1985. Improved-Recovery of Group A Beta-Hemolytic Streptococci with a new Selective Medium. Journal of Clinical Microbiology. Vol.21 No. 3 P. 307-309.
3. Carpenter, Philip L. MICROBIOLOGY. Fourth Edition, U.S.A. Saunders Company, 1977.
4. Davidsohn, Israel. Henry, John Bernard. TODD-SANFORD DIAGNOSTICO CLINICO POR EL LABORATORIO. Sexta Edición, Barcelona España, Salvat Editores, S.A., 1978.
5. Davis, Bernard D. Dulbecco, Renato, et al. TRATADO DE MICROBIOLOGIA. Tercera Edición, Barcelona España, Salvat Editores, S.A., 1984.
6. Divo, Alejandro., MICROBIOLOGIA MEDICA., Tercera Edición, México 4 D.F., Editorial Interamericana, 1980.

7. Duguid, J.P. Marmion, B.P. et al. MEDICAL MICROBIOLOGY., - Twelfth Edition, Edinburgh London and New York, Churchill Livingstone., 1975.
8. Duguid, J.P. Marmion, B.P. et al. MEDICAL MICROBIOLOGY DE MACKIE & MC CARTNEY, Thirteenth Edition, Edinburgh London and New York, Churchill Livingstone, 1978.
9. Freeman, Bob A., TRATADO DE MICROBIOLOGIA DE BURROWS, 21a. Edición, México, D.F., Nueva Editorial Interamericana, 1983.
10. Fuerst, Robert., MICROBIOLOGIA, 14a. Edición, México 8 -- D.F., Nueva Editorial Interamericana, 1981.
11. Gebhardt, Louis P. Nicholes, Paul S. MICROBIOLOGY, Fifth-Edition, Saint Louis, The C.V. Mosby Company, 1975.
12. Gray, Genevieve., WITTON'S MICROBIOLOGY, 9a. Edición, México, Editorial Continental, 1982.
13. Gunn, Bruce A. Ohashi, David K. et al. June 1977. Selective and Enhanced Recovery of group A and B Streptococci from Throat Cultures with sheep Blood agar Containing Sulfamethoxazole and Trimethoprim, Journal of Clinical Microbiology. Vol. 5 No. 6. P. 650-655.

14. Joklik, Wolfgang K. Willett, Hilda P. et al. ZINSSER MICROBIOLOGIA, 17a. Edición, Buenos Aires Argentina, Editorial Médica Panamericana, 1983.
15. Koneman, Elmer W. Allen, Stephen D. et al., DIAGNOSTICO-MICROBIOLOGICO, Buenos Aires Argentina, Editorial Médica Panamericana, 1983.
16. Lennette, Edwing H. Bolows Albert. et al., MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Fourth Edition, Washington, D.C. - - U.S.A., American Society for Microbiology, 1985.
17. Lennette, Edwing H. Spaulding Earle H. et al., MANUAL DE MICROBIOLOGIA CLINICA, 2a. Edición, Barcelona España, Salvat Editores, S.A., 1981.
18. Mac Faddin , Jean F., BIOCHEMICAL TESTS FOR IDENTIFICATION OF MEDICAL BACTERIA, Second Edition, Baltimore, Md. U.S.A. Williams & Wilkins, 1980.
19. Nester, Eugene W. Pearsall, Nancy N. et al., MICROBIOLOGY 2a. Edición, U.S.A., Library of Congress cataloging in publication data, 1978.
20. Stoner, R.A. May 1978. Bacitracin and Coagglutination for Grouping of Beta-Hemolytic Streptococci. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 7, No. 5 P. 463-466.

21. Sydney, M., Finegold. William J., Martin. et al. BAILEY AND SCOTTS DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY, Fifth Edition, St. -- Louis, Missouri, U.S.A., The C.V. Mosby Company, 1978.
  
22. Topley and Wilson's, PRINCIPLES OF BACTERIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNITY, Vol. 1, 7a. Edición, Editorial Arnold.
  
23. Youmans, Guy P. Paterson, Philip Y. et al., INFECTOLOGIA-CLINICA, 2a. Edición, México, D.F., Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V., 1984.