

11221



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**CENTRO MEDICO NACIONAL
HOSPITAL DE CARDIOLOGIA
"LUIS MENDEZ"**

**Streptococcus pyogenes: SU DETECCION POR
DIFERENTES ESTUDIOS DE LABORATORIO.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO ESPECIALISTA EN LABORATORIO CLINICO

PRESENTA EL DOCTOR:

MARCO ANTONIO CASCO ESPINOZA

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

1. INTRODUCCION	1
2. FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA	11
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
4. OBJETIVOS	15
5. HIPOTESIS	16
6. MATERIAL Y EQUIPO	17
7. METODO	19
8. DISEÑO ESTADISTICO	24
9. RESULTADOS	26
10. CONCLUSIONES	36
11. RESUMEN	38
12. BIBLIOGRAFIA	40

I. INTRODUCCION

1.1 Historia

El *Streptococcus pyogenes* fue descubierto por Rosenbach en 1884, ya antes se habían realizado varias descripciones de las enfermedades ocasionadas por éste.

En el siglo XIX Sydenham describió la escarlatina aunque en forma inexacta. Poco después fue mejor descrito la escarlatina, faringitis y amigdalitis.

Un investigador llamado Schottmüller dedicado a la investigación de laboratorio, en 1903 cultivó dichos microorganismos encontrando que algunas cepas producen hemólisis en agar sangre, dichas observaciones fueron ampliadas por Brown.

Dick y Dochezen en 1925 descartan la idea de otras bacterias actuando como agentes causales y Bloomfield atribuyó al estreptococo la etiología de la amigdalitis.

Con la introducción de la clasificación serológica del germen en grupos inicialmente por Lancefield y después en tipos por Lancefield y Griffith en 1935, además del estable

cimiento del título de antiestreptolisina O por Todd en 1932, se marca el inicio de una nueva era en la metodología diagnóstica. (3,7,11,12,13,14,15)

1.2 Características Generales

El Streptococcus pyogenes es un miembro de la familia estreptococacea, del género Streptococcus.- Es un coco gram positivo, esférico, en parejas o cadenas.- Es inmóvil, no esporulado, mide de 0.5 a 1 micras de diámetro.- Compuesto por una capa de ácido hialurónico, contiene fimbrias que sobresalen de la pared celular.

Su cultivo requiere de medios enriquecidos como: agar soya tripticasa, extracto corazón-cerebro.- Son catalasa y oxidasa negativos, aerobios facultativos, no fermentadores.- Crecen 37°C después de 18-24 horas de incubación, sus colonias son de 0.5 milímetros de diámetro, varían de transparentes a opacas de forma convexa.- Se rodea de una zona de hemólisis completa (hemólisis β) de tamaño variable.

La clasificación de Brown que aún se sigue utilizando divide a los estreptococos en: α hemolíticos cuando se

rodean de una hemólisis de color verdoso, β hemolíticos cuando ésta es de color claro y en γ hemolíticos cuando no ocasionan ninguna hemólisis. (1,2,4,8,10).

1.3. Antigenicidad

Los estreptococos del grupo A (Lancefield, 1932), se subdividen en distintos tipos sobre la base de los antígenos proteicos denominados M y T. La clasificación según los antígenos T se consigue por aglutinación sobre portaobjetos (Griffith, 1934), mientras que la clasificación de los antígenos de proteína M, dependen de una reacción de precipitación. Los antígenos de grupo y de tipo del estreptococo hemolítico se han identificado como constituyentes de la pared celular. El ácido hialurónico de la cápsula es químicamente indistinguible del hialuronato de los humanos. Aunque la cápsula puede inhibir la fagocitosis hasta cierto grado, no se ha aclarado su importancia como factor de virulencia. Desde varios puntos de vista, las proteínas M, son los antígenos superficiales más importantes, ya que están íntimamente asociados para impedir la fagocitosis. Hay más de 70 tipos serológicos de proteína M cada una de ellas es capaz de estimular una opsonización proteica y anticuerpos

precipitante. En general una cepa estreptocócica posee solamente una proteína M. La fracción polisacárida de la pared celular contiene hidratos de carbono y mucopeptidos específicos del grupo. La especificidad dominante del hidrato de carbono del grupo A, depende principalmente del N-acetilglucosamina terminal sobre las cadenas laterales de ramnosa, mientras que las del grupo C dependen de los restos de N-acetilgalactosamina sobre las cadenas laterales, por tanto los hidratos de carbono de los grupos A y C son antígenicamente similares. (10,11,23,28).

1.4 Patogenia

Los recientes estudios intensivos de infecciones cutáneas con estreptococos del grupo A han aclarado los papeles de esta bacteria en el impetigo y las piodermias, han demostrado la diferencia entre serotipos que producen tales infecciones con las que producen solo faringitis. Estos estudios han señalado la distinción entre tres poblaciones de estreptococos del grupo A.

- 1) Los que infectan la garganta, pero no la piel y causan fiebre reumática.

- 2) Las cepas de piodermis que afectan la piel, pero también pueden descubrirse en la faringe y producen glomerulonefritis, pero al parecer no fiebre reumática.
- 3) Los estreptococos faríngeos que producen glomerulonefritis pero no fiebre reumática.

El aumento del interés por el papel de la piodermia estreptocócica, en la glomerulonefritis aguda ha hecho que cada vez resultaran más claras las características que separan las infecciones cutáneas de las vías respiratorias (16, 17, 18, 19, 20).

Las cepas de estreptococos del grupo A varían mucho en su capacidad infecciosa o virulenta. Durante epidemias de faringitis la mayor parte de las cepas aisladas de garganta de pacientes con trastornos agudos contienen grandes cantidades de antígeno de superficie específico de tipo, la proteína M. Se han descrito más de 70 serotipos antigénicamente diferentes de proteína M. Estas sustancias tienen particular importancia en la patogenia de la infección por estreptococos del grupo A, porque la inmunidad específica de tipo depende de un anticuerpo para el tipo homólogo de proteína M, tales anticuerpos tienden a persistir durante

años después de la infección (21,22,23,24,25)

1.5 Diagnóstico

La faringitis y amigdalitis estreptocócica en sus formas típicas deben distinguirse sólo de la difteria. La faringitis exudativa no estreptocócica (por lo general adenovirus) y la mononucleosis infecciosa. Sin embargo, cuando la infección estreptocócica no es exudativa no puede diferenciarse de diversos agentes virales que producen un cuadro clínico idéntico. La tos, coriza y rinorrea (en adultos) hacen más probable un trastorno no bacteriano.

Es posible sin embargo, excluir el diagnóstico de la enfermedad estreptocócica en más de la mitad de los pacientes estudiados que sufren faringitis esporádica si se hacen cultivos de gargantas. La frecuencia de cultivos de gargantas positivos para estreptococos beta-hemolíticos del grupo A disminuye en forma progresiva con la edad del paciente, con enfermedades respiratorias agudas esporádicas en comunidades civiles. Es evidente por tanto, que sin confirmación bacteriológica el diagnóstico de la faringitis viral y de la faringitis estreptocócica resultan muy difíciles. (2,8,10,23)

1.5.1. Diagnóstico Inmuno Serológico

El diagnóstico inmuno serológico de las infecciones por estreptococos beta-hemolíticos del grupo A no tienen valor para el tratamiento de la enfermedad, ya que no se descubre una respuesta de anticuerpos hasta después de 10 a 20 días de iniciado el proceso infeccioso. Las mediciones de antiestreptolisina o antihialuronidasa, antiestreptocinasa, antiNADasa o antiDNasa, tienen gran valor para determinar si hubo o no una infección estreptocócica anterior en enfermos con posible fiebre reumática o glomerulonefritis. La presencia de títulos bajos de varios anticuerpos durante la convalecencia excluye la enfermedad estreptocócica reciente, excepto en pacientes que han sido tratados en forma intensa y en fase temprana de la enfermedad; los pacientes que no han recibido tratamiento antimicrobiano adecuado, presentan títulos elevados de dichos anticuerpos, los cuales pueden durar varios meses e incluso varios años (16,24,25,26,27)

Los síndromes clínicos más temidos son la fiebre reumática y la glomerulonefritis aguda.

1.6 Aspectos Importantes del Inmunoanálisis Enzimático (ELISA)

La prueba de inmunoanálisis enzimático fue propuesto por primera vez por Van Weemen y Schuurs (1971) y Engvall y Perlman, combinando el uso de antígenos o anticuerpos inmóviles sobre una fase sólida con un antígeno o un anticuerpo conjugado a una enzima que da como resultado un análisis con alta sensibilidad y especificidad.

El principio básico de esta prueba es que el antígeno o anticuerpo se adhiere a un soporte en donde se lleva a cabo la reacción antígeno-anticuerpo, poniéndose ésta de manifiesto mediante una reacción enzimática.

La ventaja del método ELISA es que por una parte usa reactivos estables con vida media prolongada y equipo simple, y por otra parte se puede automatizar o emplear equipo complicado.

Existen diferentes ensayos tipo ELISA que se utilizan para detectar antígenos o anticuerpos, según el caso; los más usados son: método directo y método de doble anticuerpo o sandwich que tiene una inmensa gama de variantes. El método directo se emplea para detectar y medir las cantida

des de anticuerpos específicos contra un antígeno, usando la fase sólida con el mismo; el método de sandwich se utiliza para detectar antígenos empleando anticuerpos específicos absorbidos en la fase sólida.

1.7 Método de Coagulación

Las reacciones de aglutinación y de precipitación son la base de la mayor parte de las técnicas comunmente empleadas en el laboratorio de inmunología. Mientras que las reacciones de precipitación son medibles en cantidad y son fácil de ejecutar. Las técnicas de aglutinación son sólo semicuantitativas y algo mas difíciles. La aglutinación de los antígenos nativos insolubles o de las partículas recubiertas por el antígeno pueden evaluarse a simple vista con o sin la ayuda del microscopio. Las ventajas importantes de las reacciones de aglutinación son su alto grado de sensibilidad y enorme variedad de sustancias identificables a través del uso de partículas que están recubiertas por antígenos o por anticuerpos.

El método de coagulación es otra variante que se basa en la unión de inmoglobulinas específicas por medio del fragmento Fc de la proteína A encontrada en células de

Staphylococcus aureus. Este reactivo da lugar a la formación de un soporte que facilita la visualización de una reacción de aglutinación, que ocurre cuando se agrega el antígeno correspondiente, ya sea en forma de colonias bacterianas previamente aisladas o directamente a partir de la muestra en la que pudiera encontrarse el agente etiológico. De esta manera se tiene una prueba sencilla, rápida, sensible y específica para la identificación de Streptococcus pyogenes (estreptococo beta-hemolítico del grupo A), no obstante, puede haber reacciones falsas positivas, que se pueden eliminar calentando la muestra en baño maría durante un minuto (14).

2. FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA

La faringoamigdalitis es una de las patologías más frecuentes de vías respiratorias particularmente en niños, es también un evento frecuente sobrediagnosticado y lo que es peor, el que con mayor frecuencia recibe un manejo inadecuado, en donde el mal uso de antibióticos constituye la regla (12). La infección respiratoria aguda (IRA) es una entidad nosológica de indudable importancia debido a su alta morbilidad del mundo. Su detección, diagnóstico, tratamiento y prevención sobre todo en la niñez, han sido de especial atención para diversas organizaciones, especialmente la Organización Mundial de la Salud (OMS). (1,4).

El clínico para tener certeza etiológica, será necesario evidenciar al estreptococo beta-hemolítico del grupo A (SBHGA). La epidemiología de faringitis y faringoamigdalitis aguda (FA y FAA), señala diversos agentes etiológicos que semejan al cuadro clínico producido por SBHGA; en posibilidades se pueden encontrar: Mycoplasma pneumoniae, Bordetella pertussis y Corynebacterium diphtheriae. Sin embargo, el estreptococo beta-hemolítico del grupo A deja secuelas no supurativas: Fiebre reumática aguda y glomeru-

lonefritis aguda. Estas secuelas no supurativas son responsables de la alta morbilidad y mortalidad en los países no industrializados, siendo la más frecuente la fiebre reumática aguda (9).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El estreptococo beta hemolítico del grupo A es el agente causal bacteriano más común de faringoamigdalitis y piodermia. Las manifestaciones clínicas dependen no sólo del proceso agudo sino también de sus complicaciones y secuelas (10).

Clinica y epidemiológicamente, hay un porcentaje de error relevante en cuanto a considerar al SBHG como etiología de FAA, sin que se pueda confirmar. Por lo tanto es necesario practicar el cultivo para confirmar la etiología. Sin embargo, la probabilidad de confirmación disminuye importantemente, cuando el paciente ha recibido antimicrobianos previa al muestreo (4,17,21)

Para lograr el aislamiento e identificación del Streptococcus pyogenes, el método bacteriológico, exige procedimientos técnicamente bien ejecutados; la colección de muestra, transporte, siembra, incubación e identificación; además es muy importante que el paciente no haya recibido previamente antimicrobianos. Lo anterior en realidad, explica parcialmente el fracaso en un buen porcentaje

de casos de confirmar la etiología estreptocócica. Además se requiere de un mínimo de tiempo de trabajo de 48-72 horas del proceso.

Alternativamente, actualmente podemos disponer de métodos inmunológicos que permiten la detección del carbohidrato "C" de la pared celular del estreptococo beta-hemolítico del grupo A directamente de la muestra del exudado faringeo, tal es el caso de los métodos inmunoenzimáticos (ELISA) y coagulación. Esta tecnología nos ofrece rapidez, alta sensibilidad y especificidad (3,11,9,21)

4. O B J E T I V O S

1. Comparar la eficiencia en la detección de Streptococcus pyogenes entre el cultivo y el inmuno análisis enzimático (ELISA) en pacientes con sospecha clínica de faringoamigdalitis estreptocócica (FAE) sin tratamiento
2. Comparar la eficiencia en la detección de Streptococcus pyogenes entre el cultivo y el inmuno análisis enzimático (ELISA) en pacientes con sospecha clínica de faringoamigdalitis estreptocócica (FAE) con tratamiento.

5. HIPOTESIS

El diagnóstico etiológico de la faringoamigdalitis por Streptococcus pyogenes en pacientes con y sin tratamiento previo al muestreo será más eficiente por un método inmunoenzimático (el cual detecta antígenos, sin importar la viabilidad de la bacteria) comparado con los procedimientos de aislamiento bacteriológicos habituales.

6. MATERIAL Y EQUIPO

MATERIAL BIOLÓGICO:

- 90 pacientes con antecedentes de FAE
- 40 muestras de suero (de pacientes)
- 90 muestras de exudado faríngeo de los pacientes estudiados

EQUIPO:

- Balanza granataria
- Incubadora
- Microscopio
- Refrigerador
- Autoclave

MATERIAL DE VIDRIO:

- Cajas de petri (de vidrio) de 90 mm de diámetro
- Pipetas graduadas de 5 ml de capacidad
- Portaobjetos
- Tubos de ensayo de 13 X 100
- Vasos de precipitado de diferente capacidad

COLORANTES:

Cristal violeta

Lugol

Safranina

MEDIOS DE CULTIVO:

Base de agar sangre (BIOXON) más sangre de carnero.

Caldo BHI (Infusión cerebro Corazón) BIOXON

Medio de transporte Stuart (BIOXON)

SOLVENTES:

Agua destilada

Mechero de Bunsen

EQUIPO DE COAGLUTINACION:

Phadebact Streptococcus Test

Phadebact Strep A

Strep B

Strep C

Strep D

Strep G

Casa comercial: Phadebact Diagnostics

EQUIPO DE ELISA

Behringer

7.1. Método

1. Se muestreó un total de 90 pacientes, de los cuales 25 tenían tratamiento antimicrobiano por lo menos cinco días antes del muestreo con antibióticos no especificados (penicilina, ampicilina, eritromicina, etc); 30 pacientes no habían recibido terapia antimicrobia por lo menos dos semanas antes del muestreo. Del total de pacientes estudiados, siete presentaban manifestaciones clínicas en el momento del muestreo y los restantes de acuerdo al diagnóstico habían presentado sintomatología de faringoamigdalitis aguda (FAA) y/o faringoamigdalitis de repetición (crónica)
2. Con un hisopo estéril, se tomó la muestra a cada uno de los pacientes directamente de las amígdalas y/o retrofaringe (fosas amigdalinas en pacientes amigdalectomizados), preferentemente del exudado.
3. Se colocó el hisopo en medio de transporte Stuart y se trasladaron las muestras al laboratorio.

7.2. Cultivo

1. Se sembraron cada una de las muestras colectadas en placas de agar sangre (se utilizó sangre desfibrinada de carnero al 5%). Se incubaron a 37°C y se observó el desarrollo de estreptococos beta-hemolíticos, a las 24 y 48 horas. Para identificar al estreptococo beta-hemolítico del grupo A o de cualquier otro grupo se empleó el método de coagulación.
2. Se reaclaron las colonias beta-hemolíticas en nuevas placas de agar sangre, después de 24 horas de incubación se tomó una colonia y se adicionó a un tubo que contenía caldo BHI y se incubó por 3 horas.

7.3. Técnica de Coagulación

- Se puso una gota de cada reactivo en la marca respectiva de la placa de reacción
- Se adiciona una gota de la muestra (suspensión bacteriana en caldo BHI) para gota de reactivo en la placa.
- Se mezclaron las gotas perfectamente, con asa bacteriológica, esterilizando a la flama del mechero Bunsen, para cada muestra.

- Se agitó la placa manualmente y se observó el resultado antes de un minuto. Positivo = presencia de coagulación. Negativo = no hubo coagulación.

7.4. Determinación del título de antiestreptolisina "O"

- Para la determinación se utilizó la técnica de estreptolisina "O" BELI

La estreptolisina "O" ha sido preparada y estandarizada para la determinación del título de antiestreptolisina en el suero de personas con infecciones por estreptococo del grupo A.

El título de antiestreptolisina "O", se expresa en unidades Todd, estas unidades son la recíproca de la dilución más alta del suero que neutraliza completamente la estreptolisina.

7.5. Técnica de ELISA (Ensayo Inmuno Enzimático)

1. Se rotularon los tubos para cada una de las 90 muestras y también para los controles positivo y negativo.
2. Se adicionaron los reactivos a los tubos en el orden siguiente: 3 gotas del vial A (Extracción A). 3 gotas

del vial B (Extracción B)

3. Se empleó para cada muestra (de cada paciente) un hisopo estéril y un tubo de reacción correctamente etiquetado. Se corrieron controles: para control positivo se emplea un hisopo estéril y una gota de control positivo; para el control negativo se empleó sólo el hisopo estéril.
4. Se mezclaron los reactivos girando suavemente el hisopo (dentro del tubo de reacción), aproximadamente durante 15 segundos; los hisopos pueden permanecer en los tubos de 1 a 5 minutos. Se dejó fluir el contenido del hisopo, por rolamiento contra el interior de las paredes del tubo de reacción.
5. Se adicionaron tres gotas del vial 1 (enzima conjugada streptococcus-5) a todos los puntos. Se incubaron los tubos a temperatura ambiente (20 a 30°C) por tres minutos.
6. Se adicionaron tres gotas de la solución de lavado a cada tubo y se mezcló.
7. Se decantó todo el contenido del tubo y se lavó 5 veces

de la siguiente manera:

- a) Se llenó el tubo completamente con agua fría
 - b) Se desechó el agua. Se sacudió el tubo bruscamente para remover los residuos de agua
8. Seguido del lavado final, se secó el borde del tubo sobre el papel absorbente para remover el exceso de agua.
9. Se adicionaron reactivos a los tubos en el siguiente orden:

5 gotas del vial 2

1 gota del vial 3

Se mezclaron los reactivos por agitación suave.

10. Incubamos los reactivos por dos minutos a temperatura ambiente (20 a 30°C).
11. Inmediatamente después de la incubación se observaron los tubos frente a un fondo blanco.

Un color azul presente en el tubo de reacción significa que el resultado es positivo. La ausencia de color significa que el resultado es negativo.

8. DISEÑO ESTADÍSTICO

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Positivos Verdaderos

a) Cultivo Positivo + Clínica positivo o negativo + ELISA positivo ASO mayor de 250 U.T.

b) Cultivo Positivo + Clínica positivo + ELISA positivo. ASO menor de 250 U.T.

2. Negativo Verdadero

a) Cultivo negativo + Clínica negativo + ELISA negativo + ASO menor de 250 U.T.

3. Falsos positivos

a) ELISA positivo + Cultivo negativo + Clínica negativo + ASO menor de 250 U.T.

CULTIVO: Positivo = aislamiento de Str pyogenes

Negativo = no aislamiento de Str.

pyogenes

CLINICA: Positiva = Signos y síntomas de farin-
goamigdalitis estreptococcica

ELISA: Ensayo inmunoenzimático

ASO: Título de antiestreptolisina "O" en Uni-
dades Todd

9. RESULTADOS Y ANALISIS

Se estudió un total de 90 pacientes con y sin terapia antimicrobiana. En los dos primeros cuadros se toma en cuenta el cultivo, ELISA y las manifestaciones clínicas; en los cuadros restantes, además de los criterios anteriores se determinó el título de antiestreptolisina O en suero (ASO en unidades Todd)

El cuadro No. 1 muestra un total de 40 pacientes, se compara el cultivo contra ELISA y se toma en cuenta la clínica, dicho grupo de pacientes no había recibido terapia antimicrobiana por lo menos dos semanas antes del muestreo. En este grupo de pacientes no se determinó el título de A.S.O. Hubo tres detecciones de Estreptococo Beta-hemolítico grupo A por ELISA. No hubo aislamientos.

El cuadro No. 2 muestra resultados de 15 pacientes que habían recibido terapia antimicrobiana, con antibióticos no especificados previo al muestreo, al igual que el anterior se compara el cultivo contra la técnica de ELISA y la clínica; se observa la detección de estreptococo beta-hemolítico del grupo A por ELISA en uno de los casos, pero no se logró ningún aislamiento.

En el cuadro No. 3 se correlacionan los aislamientos diferentes a estreptococo beta-hemolítico del grupo A. con ELISA, ASO y manifestaciones clínicas. En dos casos se aisló estreptococo beta-hemolítico del grupo G con ELISA negativo y título de ASO superior a 250, sin manifestaciones clínicas. En un caso se aisló S. aureus con ELISA negativo y título de ASO superior a 250 sin manifestaciones clínicas.

En el cuadro No. 4 se aprecian los resultados de pacientes que habían recibido terapia antimicrobiana no especificada (varios: penicilina, ampicilina, etc.) con dosis y duración variable previo al muestreo y pacientes que no habían recibido terapia antimicrobiana previo al muestreo. Del primer grupo de pacientes se lograron cinco aislamientos de estreptococo beta-hemolítico del grupo A y diez de detecciones por la técnica de ELISA: 30 cultivos negativos y 20 negativos por ELISA. Del segundo grupo de pacientes se logró un aislamiento de estreptococo beta-hemolítico del grupo A en cuatro casos y veinte detecciones por ELISA: 51 cultivos negativos y 40 negativos por ELISA. Como podemos observar, hubo un mayor número de detecciones por el método inmunoserológico que por medio del cultivo.

Los cuadros 5,6 y 7 incluyen resultados que cumplen con nuestros criterios para determinar, sensibilidad, especificidad, eficiencia diagnóstica, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN).

CUADRO No. 1

RESULTADOS DE 40 PACIENTES PARA LA INVESTIGACION DE
SBHGA SIN TERAPIA ANTIMICROBIANA

No. DE PACIENTES	CULTIVO	ELISA	CLINICA
35	-	-	-
3	-	+	-
2	-	-	+

CUADRO No. 2

RESULTADOS DE 15 PACIENTES PARA LA INVESTIGACION DE
SBHGA CON TERAPIA ANTIMICROBIANA

No. DE PACIENTES	CULTIVO	ELISA	CLINICA
13	-	-	-
1	-	+	-
1	-	-	+

SBHGA: *Streptococcus beta-hemolítico del Grupo "A"*

(+) Positivo

(-) Negativo

CULTIVO: Negativo = no aislamiento de SBHGA

ELISA: Ensayo inmuno enzimático

CLINICA: Positiva = signos y síntomas de faringo
amigdalitis estreptocócica

CUADRO No. 3

AISLAMIENTOS DIFERENTES A SBHGA EN LOS PACIENTES ESTUDIADOS

PACIENTE	CULTIVO	ELISA	ASO	CLINICA
1	SBHG "G"	-	3000	-
2	SBHG "G"	-	600	-
3	S aureus	-	1500	-

SBHG "G": Streptococcus beta-hemolítico del grupo "G"

S. aureus: Staphylococcus aureus

(-) : Negativo

(+) : Positivo

ASO: Título de Antiestreptolisina o en unidades Todd

ELISA: Ensayo Inmuno Enzimático

Clínica: (-) = sin signos y síntomas de faringo-amigdalitis estreptocócica

CUADRO No. 4

INVESTIGACION DE SBHGA, COMPARANDO CULTIVO V.S. ELISA, EN MUESTRAS DE 90 PACIENTES CON Y SIN TERAPIA ANTIMICROBIANA

	CULTIVO		TOTAL	ELISA		TOTAL
	(+)	(-)		(+)	(-)	
Con tratamiento	5	30	35	10	20	30
Sin tratamiento	4	51	55	20	40	60
Total	9	81	90	30	60	90

SBHGA: Streptococcus beta-hemolítico del grupo "A"

CULTIVO:

Positivo = aislamiento de SBHGA
negativo = no aislamiento de SBHGA

ELISA: Ensayo inmuno enzimático

(+): Positivo

(-): Negativo

CUADRO No. 5

RESULTADOS DE PACIENTES QUE CUMPLEN CON NUESTROS CRITERIOS
PARA CONSIDERARLOS COMO POSITIVOS VERDADEROS, CON Y SIN
TERAPIA ANTIMICROBIANA

PACIENTE	CULTIVO	ELISA	ASO	CLINICA	Tx
1	+	+	500	-	+
2	+	+	250	-	+
3	+	+	500		-

(+): Positivo

(-): Negativo

Tx: Tratamiento

ASO: Título de Antiestreptolisina o en unidades
Todd

CULTIVO: (+): Aislamiento de SBHGA

(-): No aislamiento de SBHGA

SBHGA: Streptococcus beta-hemolítico del grupo A

ELISA: Ensayo inmuno enzimático

CLINICA: (+) Signos y síntomas de faringoamigdalitis
estreptocócica

CUADRO No. 6

RESULTADOS DE PACIENTES QUE CUMPLEN CON NUESTRO CRITERIO
PARA CONSIDERARLOS COMO NEGATIVOS VERDADEROS, CON Y SIN
TERAPIA ANTIMICROBIANA

PACIENTE	CULTIVO	ELISA	ASO	CLINICA	Tx
1	-	-	125	-	+
2	-	-	125	-	+
3	-	-	125	-	+
4	-	-	125	-	+
5	-	-	125	-	+
6	-	-	125	-	+
7	-	-	125	-	-

(+): Positivo
 (-): Negativo
 Tx: Tratamiento
 ASO: Título de antiestreptolisina o en Unidades Todd

CULTIVO:

(+): Aislamiento de SBHGA
 (-): No aislamiento de SBHGA

ELISA: Ensayo inmuno enzimático

CLINICA: (-): No signos y síntomas de faringoamigdalitis estreptocócica

CUADRO No. 7

RESULTADO GLOBAL DEL METODO ENSAYO INMUNO ENZIMATICO
COMPARADO CON EL CULTIVO EN LA DETECCION DE SBHGA

	ENFERMOS		No. ENFERMOS
POSITIVOS	POSITIVOS VERDADEROS	POSITIVOS FALSOS	TOTAL DE POSITIVOS
	6	4	10
NEGATIVOS	NEGATIVOS FALSOS	NEGATIVOS VERDADEROS	TOTAL DE NEGATIVOS
	0	18	18
TOTAL	6	22	28

SBHGA: Streptococcus beta-hemolítico del grupo "A"

10. CONCLUSIONES

En la actualidad existen varios métodos para la identificación del estreptococo beta-hemolítico del grupo A. El método más comúnmente usado es el aislamiento por medio del cultivo, esto implica una buena toma de la muestra, una siembra rápida en el medio adecuado y una técnica muy precisa. Una vez aislada la bacteria se realizan pruebas confirmatorias como la técnica de coagulación o la sensibilidad a la bacitracina.

El otro método utilizado es la prueba inmunoserológica de ELISA que consiste en la detección del carbohidrato "C" del estreptococo beta-hemolítico del grupo A. La prueba utiliza anticuerpos monoclonales altamente específicos. La interpretación de los resultados es rápida y sencilla, a diferencia del cultivo que tarda por lo menos 48 horas en obtenerse un resultado.

En este estudio se obtuvieron resultados similares a otros anteriormente hechos. El método de ELISA tiene una sensibilidad del 100% y una especificidad del 93%, este método por sí solo no confirma la enfermedad pero un resultado negativo es altamente sugestivo de ausencia de ésta

si es aplicada en el momento indicado.

El diagnóstico final etiológico de la faringo amigdalitis será hecho por el médico patólogo clínico del laboratorio quien valorará cada caso correlacionando los hallazgos de laboratorio con los datos clínicos; en su defecto, el diagnóstico lo hará el médico tratante.

1.1. RESUMEN

La faringoamigdalitis por estreptococo beta-hemolítico del grupo A, es un reto diagnóstico en el terreno exclusivamente clínico, tanto como para confirmar como para descartar. Actualmente sigue vigente el diagnóstico de certeza por metodología bacteriológica. Sin embargo, estamos presenciando la aparición de metodología alternativa con principios inmunológicos para la detección de antígenos.

OBJETIVOS

- Comparar la eficiencia en la detección de Streptococcus pyogenes entre el cultivo y el inmunoanálisis enzimático (ELISA) en pacientes con sospecha clínica de faringoamigdalitis estreptocócica con y sin tratamiento.
- Determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, en el diagnóstico por el método de ELISA

METODOLOGIA

- Cultivo y ELISA (inmunoanálisis enzimático)

RESULTADOS

- Sensibilidad 100%, especificidad 93%

CONCLUSIONES

- Concluimos que el método de diagnóstico ELISA nos ayuda a descartar la sospecha de faringoamigdalitis estreptocócica con una seguridad del 100%, pero no tenemos certeza para confirmar la enfermedad.

12. BIBLIOGRAFIA

1. Benerson S.A., Editor: El control de enfermedades transmisibles en el hombre: Informe Oficial de la Asociación Americana de la Salud Pública. 13a. Ed, 1980. publicación detallada del Vol. 42.
2. Bisno A.L., M.D. The Diagnosis of Streptococcal Pharyngitis. *Ann. Inter. Med.* 90 (3) 1979: 426-428.
3. Chang M.J. and Mohla Chitra. Ten-Minute Detection of Group A Streptococci in Pediatric Throat Swabs. *J. Clin. Microbiol.* 21(2) 1985: 258-259
4. Conde G.C.J. Diagnóstico rápido de infección respiratoria aguda en población infantil. *Infectología* (6) 1985: 153-157
5. Crawford George, M.D., Brancato F. pH D. and Holmes K. K.M.D. Streptococcal Pharyngitis: Diagnosis by Gram Stain. *Annals of International Medicina.* 90 (3) 1979: 293-297
6. Crow C.C., Sanders W.E, Jr. and Longley S. Bacterial interference II. Role of the Normal Throat Flora in Prevention of Colonization by Group A Streptococcus. *J. Infect. Dis.* 128 (4) 1973: 527-532.
7. Favila C.L., Foster C.M, Velázquez G.P., Cruz de la G.R. Los Anticuerpos Monoclonales y sus Aplicaciones Médico-Biológicas *Infectología* (3) 1984: 83-89
8. Feigin y Cherry. "Tratado de Infecciones Pediátricas Editorial Interamericana. España. 1983. p. 125-131 y 1136-1145
9. Flat F.A. Jr. Faringitis Bacteriana en Adultos. *Infectología* (12) 1985 : 332-337
10. Freeman A.B. "Tratado de Microbiología de Burrows ". 20a. Edic. Editorial Interamericana; México, D.F., 1984 p. 447-575.

11. Gerber M.A., Spadaccini L.J., R.N., Wright L.L., B.S. and Deutsch, M.D. Latex Agglutination Test for Rapid Identification of Group A Streptococci Directly from Swabs. *J. Pediatrics.* 105 (5) 1984: 702-705
12. González N.J. et al. Infecciones de Vías Respiratorias Superiores. EN: *Infectología Clínica* ; 2a. Ed. Editorial Trillas. México, 1984, p. 59-65.
13. Hernández L.J., Santos A.L. Aspectos Relevantes del Inmuno Análisis Enzimático (ELISA). *Infectología* (2) 1985: 52-56
14. Información Estadística del Sector Salud y Seguridad Social: Instituto de Estadística e Informática, SSA, APP. Cuaderno No. 3 de Información
15. James H.B. and J. W.B. Streptococcal Pharyngitis: Optimal Site for Throat Culture. *J. Pediatrics* 106 (5) 1985: 781-783
16. Kaplan E.L., Franklin H.T., Jr., Dudding B.H. and Wannamaker L.W. Diagnosis of Streptococcal Pharyngitis: Differentiation of active infection from the Carrier State in the Symptomatic Child. *J. Infec. Dis.* 123 (5) 1971: 490-501.
17. Kaplan E.L. The Group A Streptococcal Upper Respiratory Tract Carrier State: An Enigma. *J. Pediatrics.* 97 (3) 1980: 337-344.
18. Komaroff A.L., M.D. A Management Strategy for Sore Throat *JAMA* 239 (14) 1978: 1429-1432
19. Koneman E.W. "Diagnóstico Microbiológico", Editorial Panamericana, México, D.F. 1985: 291-314
20. Lancefield R.C. A Serological Differentiation of Human and other Group of Hemolytic Streptococci. *J. Exp. Med.* 57: 1933, 571-595.
21. Lennete E. "Microbiología Clínica"; 3a. Ed. edición Médica Panamericana. Buenos Aires. 1982

22. McCusker J.J., McCoy I.F., et al. Comparison of Directigen Group A Strep-Test With a Traditional Culture Technique for Detection of Group A Beta-Hemolytic Streptococci. J. Clin. Microbiol. 20 (4) 1984: 824-825
23. Miescher P.A. y Muller-Eberhad A.J. "Tratado de Inmunopatología", Editorial Científico. Médica España. 1971. Vol. 1 p. 349-361 y 411-431
24. Packer H.M.D, and Douglas H. Sprunt M.D. A study of Hemolytic Streptococcal Infections in Relation to Antistreptolysin o Titer Changes in Orphanage Children J. Pediatrics. 48 (5) 1956: 545-561
25. Peter G.M.D. and Smith A.L.M.D. Group A Streptococcal Infections of skin and Pharynx. New England J. Med. 297 (6) 1977: 311-317
26. Platt A.F. Faringitis bacteriana en adultos. Infectologia (12) 1985: 332-337
27. Rantz L.A., Maroney M. and Di Caprio J.M. Antistreptolysin o Resoibse Following Hemolytic Streptococcus Infection in Early Childhood. Arch. Intern. Med. 87: 1951, 360-371
28. Ruiz Palma Ma S. Pruebas para la identificación de Estreptococos. Infectología (6) 1969: 698-707.