

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y
BIOTECNOLÓGICAS
PROGRAMA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



IDENTIFICACIÓN Y PATRÓN DE SENSIBILIDAD DE PATÓGENOS
GRAM POSITIVOS EN MUESTRAS DE SECRECIÓN FARINGEA EN
NIÑOS CON FARINGITIS Y FARINGOAMIGDALITIS AGUDA DEL
SERVICIO DE PEDIATRÍA DEL HOSPITAL REGIONAL AREQUIPA
“JULIO PINTO MANRIQUE” XI - DIRTEPOL 2007-2008

Tesis presentada por la Bachiller:
Claudia Verónica De Taboada Vilca.

Para optar el Título Profesional de:
Químico Farmacéutico

Asesor:
Q. F. Jesús Mercedes Jave Márquez

AREQUIPA – PERU

2008

“La resistencia a antimicrobianos como un fenómeno per se no es una sorpresa, tampoco es algo nuevo. Aun así, de nuevo nos preocupa ya que la resistencia crece aceleradamente, mientras que las herramientas que el mundo cuenta para combatirla disminuyen en poder y número.”

Joshua Lederberg,

Premio Nobel

DEDICATORIA

A MIS QUERIDOS HIJOS ANDREA Y ALEJANDRO

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Mercedes Jave Márquez por su colaboración y ayuda constante, por su labor de asesoría y consejos.

Al personal médico del Servicio de Pediatría del Hospital Regional Arequipa Julio Pinto Manrique, por su apoyo y colaboración.

A todos aquellos que me apoyaron, muchísimas gracias.

ÍNDICE

	Pág.
Resumen -----	8
Abstract -----	10
Introducción -----	12
Hipótesis -----	13
Objetivos de la Investigación -----	14
CAPITULO I: MARCO TEÓRICO -----	15
1.1.- Antecedentes -----	15
1.2.- Aspectos conceptuales pertinentes-----	16
1.2.1.- Amígdalas -----	16
1.2.2.- Faringitis aguda -----	16
1.2.3.- Faringoamigdalitis aguda -----	17
1.2.4.- Estructura de las bacterias Gram positivas -----	18
1.2.5.- Estructura de las bacterias Gram negativas -----	19
1.2.6.- <i>Streptococcus pyogenes</i> -----	20
1.2.7.- Faringoamigdalitis estreptocócica-----	24
1.2.8.- Complicaciones -----	26
1.2.9.- Genero <i>Staphylococcus</i> -----	28
1.2.10 Flora normal -----	35
1.3.- Agentes antimicrobianos y modos de acción-----	37
1.4.- Mecanismos de resistencia antimicrobiana-----	44
1.5.- Resistencia Intrínseca vs. Adquirida -----	47

1.6.- Mecanismos de resistencia de <i>S. aureus</i> frente a antibióticos beta-lactámicos -----	48
CAPÍTULO II: MATERIAL Y MÉTODOS -----	50
2.1.- Material -----	50
2.2.- Métodos -----	52
2.2.1.- Nivel y tipo de Investigación-----	52
2.2.2.- Criterios -----	52
2.2.3.- Estratificación de la muestra -----	53
2.2.4.- Procedimiento -----	53
A.- Toma de muestra -----	53
B.- Transporte y conservación de la muestra -----	54
C.- Siembra -----	55
D.- Lectura de las siembras -----	55
E.- Tinción de Gram -----	57
F.- Prueba de la catalasa -----	58
G.- Identificación de estreptococos -----	59
H.- Identificación de estafilococos -----	62
I.- Prueba de la coagulasa -----	63
J.- Antibiogramas -----	64
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----	69
Tabla 1.- Características de la población estudiada -----	69
Tabla 2.- Edad de los pacientes -----	70
Tabla 3.- Distribución de la muestra por edad y sexo -----	72

RESUMEN

El presente es un estudio descriptivo, prospectivo y de corte transversal, cuyo objetivo es identificar los agente etiológicos bacterianos Gram. positivos causantes de faringitis y faringoamigdalitis aguda en niños de 0 a 12 años y su respectiva sensibilidad a los distintos antibióticos, en muestras de secreción faríngea recolectadas durante los meses de diciembre de 2007, enero, febrero y marzo de 2008 en el Servicio de Pediatría del Hospital Regional Arequipa “Julio Pinto Manrique” XI – DIRTEPOL.

Fueron procesadas y analizadas 100 muestras, las cuales fueron cultivadas en los siguientes medios: Agar sangre, Agar chocolate y Agar manitol salado.

Todas las muestras se recolectaron por duplicado para también someterlas a un examen directo al microscopio con la tinción de Gram.

Todos los antibiogramas fueron realizados por el Método de Kirby Bauer.

De los 100 pacientes analizados se encontró *Streptococcus pyogenes* en el 24% , *Staphylococcus aureus* en el 20% y simultáneamente ambos patógenos en el 6% de los casos.

Se encontró también la siguiente flora normal: *Streptococcus viridans* (25.20%), *Streptococcus pneumoniae* (23.62%), *Staphylococcus epidermidis* (7.09%).

Staphylococcus aureus presentó una resistencia muy elevada a penicilina (92.31% de las cepas fueron resistentes), pero ante el resto de antibióticos no mostró este comportamiento; ante amoxicilina/ácido clavulánico fue resistente en un 30.77% y frente a clindamicina mostró una resistencia de 23.08%; ante cefalexina y cefaclor mostró una resistencia de 19.23%; ante eritromicina y azitromicina tuvo una resistencia de 15.38% y 11.54% respectivamente; frente a oxacilina la resistencia fue de 11.54%; frente a ceftriaxona, y gentamicina presento una resistencia del orden de 3.85% . Cabe resaltar que frente a cotrimoxazol no hubo resistencia.

Streptococcus pyogenes presento una mayor resistencia frente a penicilina (46.67%); ante cefalexina la resistencia fue de 43.33%; ante clindamicina fue de 30%; un 26.67% de cepas fueron resistentes a ceftriaxona; ante

eritromicina y azitromicina la resistencia fue de 16.66% y 13.33% respectivamente; mientras un 16.67% fue resistente a cefaclor, y un 6.67% lo fue ante gentamicina; pero no presentó resistencia frente a cotrimoxazol y amoxicilina/ácido clavulánico.

Se concluyó lo siguiente para nuestra población en estudio:

El 50% de estas faringitis y faringoamigdalitis agudas son de origen bacteriano patógeno.

El único antibiótico al cual fueron sensibles todas las cepas de *S. pyogenes* y *S. aureus* fue cotrimoxazol (trimetoprin/sulfametoxazol), por lo que se sugiere utilizar este antimicrobiano en esta población pediátrica.

Se sugiere también promover el cultivo de secreción faringea en pacientes con faringitis y faringoamigdalitis aguda antes de iniciar el tratamiento con un antimicrobiano.

Por último, recordar que debemos promover el uso de antimicrobianos de espectro reducido que sean eficaces contra el germen implicado, evitando el uso de antimicrobianos de amplio espectro.

ABSTRACT

This is a descriptive study, prospective and cross-cutting, which is aimed at identifying Gram positive bacterial agents that cause of acute sore throat in children aged 0 to 12 years and their sensitivity to different antibiotics, secretion pharyngeal samples collected during the months of December 2007, January, February and March 2008 on the Pediatrics Service of Regional Hospital "Julio Pinto Manrique" XI – DIRTEPOL - Arequipa. They were processed and analyzed 100 samples, which were cultivated in the following ways: blood agar, chocolate agar and salty mannitol agar. All samples were collected in duplicate to also submit to a direct examination under a microscope with the Gram tincion. All Antibiograms were made by the method Kirby Bauer.

Of the 100 patients studied was found *Streptococcus pyogenes* in 24%, *Staphylococcus aureus* in 20% and simultaneously both pathogens in 6% of cases. It also found the following normal flora: *Streptococcus viridans* (25.20%), *Streptococcus pneumoniae* (23.62%), *Staphylococcus epidermidis* (7.09%) *.Staphylococcus aureus* presents a very high resistance to penicillin (92.31% of the strains were resistant), but to the rest of antibiotics not show this behavior; before amoxicillin / Clav. acid was resistant a 30.77% compared to clindamycin showed a resistance of 23.08 %; before cefalexin and cefaclor showed a resistance of 19.23% to erythromycin and azithromycin had a resistance of 15.38% and 11.54% respectively, compared to oxacillin resistance was 11.54%, compared with ceftriaxone, and gentamicin presents a resistance on the order of 3.85%. It should be noted that compared to cotrimoxazole there was no resistance. *Streptococcus pyogenes* presenting greater resistance to penicillin (46.67%); before cephalosporin resistance was 43.33%; to clindamycin was 30%, a 26.67% of strains were resistant to ceftriaxone, to erythromycin and azithromycin resistance was 16.66% 13.33% respectively, while 16.67% were resistant cefaclor, and a 6.67% gentamicin was a response, but not presenting resistance to cotrimoxazole and amoxicillin / Clav. Acid.

It concluded the following thing for our study population:

50% of these are acute sore throat of a bacterial pathogen.

The only antibiotic which were sensitive to all strains of *S. aureus* and *S. pyogenes* was cotrimoxazole (trimetoprin / sulfamethoxazole), which suggests that antibiotic use in the pediatric population.

It also suggests promoting the cultivation of pharyngeal secretion in patients with acute sore throat before starting treatment with an antibiotic.

Finally, remember that we must promote the use of antimicrobial spectrum reduced to be effective against the germ involved, avoiding the use of broad spectrum antimicrobials.

INTRODUCCIÓN

La faringitis y la faringoamigdalitis aguda son las enfermedades más frecuentes en la infancia, que motivan numerosas consultas médicas y ocasionan una gran parte de las prescripciones antibióticas. Su incidencia es mayor en sectores sociales más desfavorecidos como respuesta a una dieta, vivienda y condiciones ambientales generales de pobreza. Las comunidades cerradas de convivencia o hacinamiento como guarderías, colegios, etc., también constituyen situaciones favorecedoras. Estacionalmente, el invierno y el comienzo de la primavera son las épocas del año más propicias, pudiendo aparecer en cualquier época.

Generalmente, se recomienda el tratamiento antibiótico en las faringoamigdalitis agudas estreptocócicas, fundamentalmente para prevenir sus complicaciones, pero también para acortar su curso clínico y contagiosidad. Si se tiene en cuenta que estas solo representan un pequeño porcentaje, se comprenderá la gran importancia de realizar un diagnóstico etiológico certero para no utilizar innecesariamente antibióticos en el resto, con consecuencias negativas como emergencia de bacterias resistentes, alergias, intolerancias e incremento de costos.

En la mayoría de los casos diagnosticados de faringitis y faringoamigdalitis aguda, la elección del antibiótico se realiza de forma empírica, por lo cual es necesario conocer cuál es el principal agente etiológico de dicha enfermedad, para así darle el tratamiento adecuado.

Se ha observado una formulación indiscriminada de antibióticos en el 75% de los casos de faringitis aguda.²⁸ Este mal uso de los antibióticos puede llevar a consecuencias negativas, tanto para el individuo como para la salud pública en general.

HIPÓTESIS

Dado que las faringitis y faringoamigdalitis agudas son muy frecuentes en niños de nuestra comunidad, es importante identificar los agentes etiológicos bacterianos, y es probable que por no realizar un cultivo de secreción faríngea se esté administrando antibióticos ineficaces contra estos microorganismos.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

- 1) Determinar el porcentaje de faringitis y faringoamigdalitis aguda de origen bacteriano, en nuestra población en estudio.
- 2) Identificar los microorganismos patógenos Gram positivos causantes de faringitis y faringoamigdalitis aguda en niños de nuestra comunidad.
- 3) Determinar la sensibilidad a los distintos antibióticos de los microorganismos patógenos Gram positivos encontrados.

CAPITULO I: MARCO TEÓRICO

1.1.- ANTECEDENTES

1.1.1.-SITUACIÓN DE LAS ENFERMEDADES RESPIRATORIAS EN LA REGION AREQUIPA

Como consecuencia del fenómeno del “friaje” las infecciones respiratorias en todo el ámbito de la región se han incrementado.

Son varios factores los que inciden en el incremento de la notificación de IRAs, teniendo mayor asociación los relacionados a los cambios bruscos de temperatura. Arequipa viene soportando las más bajas temperaturas y cambios irregulares de los fenómenos climatológicos, que han obligado a declarar el estado de “Alerta Amarilla” con la finalidad de prestar una atención más oportuna y garantizar la accesibilidad y disponibilidad en el manejo apropiado de las IRAs.

Asimismo, se pueden explicar estos incrementos, por la mayor captación de pacientes, a los servicios de salud con el Seguro integral de salud “SIS” y la gratuidad de los tratamientos según protocolos de manejo clínico epidemiológico.

1.1.2.-CONTEXTO INTEGRAL DE LAS INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS

En un contexto integral, se debe señalar que la mayor demanda por enfermedades respiratorias agudas, se registran en las zonas urbanas de gran concentración poblacional, como es el caso de Arequipa metropolitana donde se han incrementado los casos de IRAs, así como los casos complicados (bronquitis y bronconeumonías) con considerable incremento en los niveles de hospitalización y donde la estadía de internamiento esta en promedio de 3,5 días.

Se reporta que estos casos son resistentes a la mayoría de antibióticos usados en los protocolos conocidos, obligando a usar otros de amplio espectro.

Otra característica que mencionan los profesionales Especialistas (Pediatras) es que en su mayoría son procesos recidivantes, que de ser mal conducidos se complican con procesos bronquiales mas severos.¹⁶

Según la Dirección Regional de Salud Arequipa, el reporte de morbilidad general incluyó como primera causa de morbilidad a las faringitis en todos los grupos etareos.¹²

1.2.- ASPECTOS CONCEPTUALES PERTINENTES

1.2.1.-AMIGDALAS.-

Agrupación de tejido linfoide encapsulado, ubicado en la pared lateral de la orofaringe. Se encuentran parcialmente cubiertas por los pilares faringeos anteriores. La cápsula que cubre la superficie lateral, se encuentra separada del espacio peri amigdalino por el músculo constrictor superior de la faringe.

1.2.2.-FARINGITIS AGUDA.-

La faringitis aguda es predominantemente una enfermedad de niños entre los 5 y los 15 años de edad. La faringitis por *Estreptococo beta-hemolítico del grupo A (S. pyogenes)* en pacientes pediátricos comprende un 30% de los casos, afectando más a los niños en edad escolar, y con frecuencia se presenta de manera epidémica, con la aparición de varios casos en la misma familia.¹⁸



1.2.3.-FARINGOAMIGDALITIS AGUDA.-

Esta infección es el tercer diagnóstico más frecuente en la práctica clínica pediátrica, solo superada por la infección respiratoria de vías altas y la otitis media. Afecta fundamentalmente a niños en edad escolar, 5 – 10 años, es más prevalente en climas fríos o templados y en los periodos de invierno y primavera. La transmisión es por contacto estrecho persona-persona a través de las secreciones, generándose brotes pequeños en grupos cerrados o semicerrados.

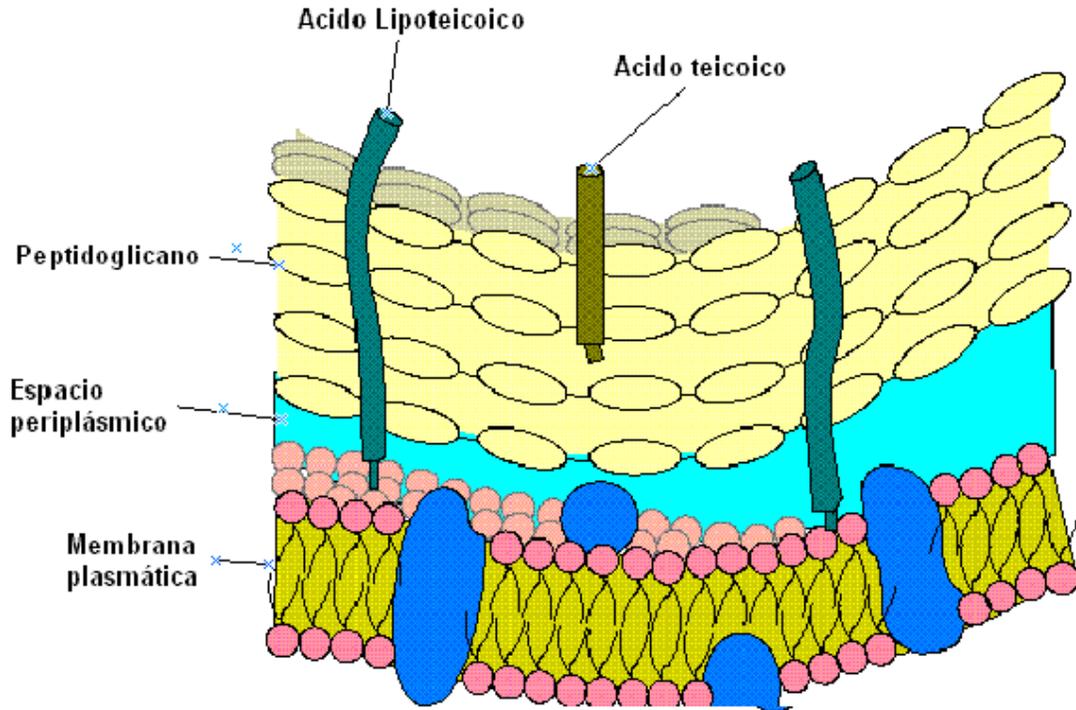
Múltiples agentes virales y bacterianos son capaces de producir faringoamigdalitis aguda, aunque también puede ser causada por hongos o chlamydias.

Los microorganismos que forman la flora normal o dan lugar a procesos infecciosos del anillo de Waldeyer siguen siendo, hoy en día, discutidos, observándose un continuo cambio en cuanto a su aislamiento a lo largo de los años. El abuso constante de los tratamientos antibióticos obliga a mantener de forma actualizada, los cultivos bacteriológicos amigdalares.



1.2.4.-ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS GRAM POSITIVAS

Envoltura de Gram Positivo



A. PARED CELULAR:

Ácidos teicoicos son polímeros que están entrelazados en la capa de peptidoglicano y se extienden en forma de cilios más allá de la superficie.

La capa de peptidoglicano o capa de mureína, es mucho más gruesa que la de las bacterias Gram.-negativas. Es responsable de mantener la forma del organismo y por lo general se conoce como la pared celular.

B. MEMBRANA CITOPLÁSMICA:

Rodea al citoplasma de la célula y contiene proteínas y fosfolípidos. Muchas de las proteínas contenidas en la membrana celular son enzimas responsables del metabolismo celular.

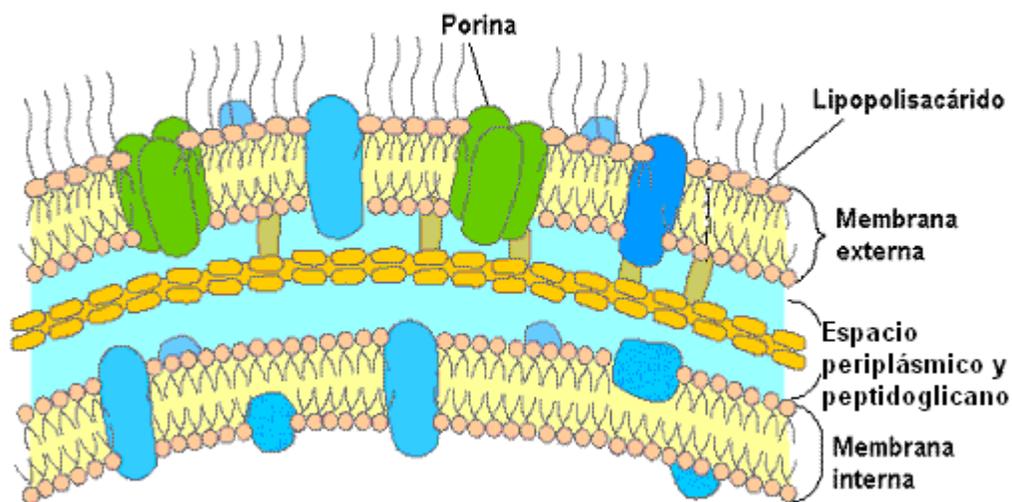
También sirve como una barrera de permeabilidad y un enlace de permeabilidad para las sustancias que entran a la célula.

C. CITOPLASMA Y OTROS COMPONENTES INTERNOS:

Contiene los cromosomas, ribosomas y otras estructuras internas. La gran mayoría de bacterias tiene un solo cromosoma pero unas pocas, como el *Vibrio cholerae*, tiene dos cromosomas.

1.2.5.-ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS GRAM NEGATIVAS:

Envoltura de Gram Negativo



A. PARED CELULAR:

La membrana externa sirve como la principal barrera de permeabilidad de la célula y ayuda a retener proteínas en el espacio periplásmico.

Porinas, son canales llenos de agua en la membrana externa que facilitan el transporte de nutrientes y sustancias de bajo peso molecular dentro de la célula, incluyendo agentes antimicrobianos. Las bacterias varían en el número y tipo de porinas que contienen.

Lipopolisacáridos se encuentran en la superficie de la célula y son el componente esencial de las endotoxinas. Ellos contribuyen a la capacidad de la bacteria para causar enfermedad.

Lipoproteínas, adhieren la membrana externa a la capa de mureina.

La capa de peptidoglicano de las bacterias Gram.-negativas es un polímero que consiste de ácido N-acetil muramico y N-acetil glucosamida entrelazados. Esta se conoce con frecuencia como la capa de mureina o pared celular y es responsable de mantener la forma del organismo. Esta localizado dentro del espacio periplasmico.

El espacio periplasmico se encuentra entre la membrana externa y la membrana citoplasmática. Las proteínas periplasmicas incluyen proteínas de enlace para sustratos específicos, enzimas hidrolíticas y enzimas detoxificantes.

B. MEMBRANA CITOPLÁSMICA:

Rodea al citoplasma, contiene proteínas y fosfolípidos.

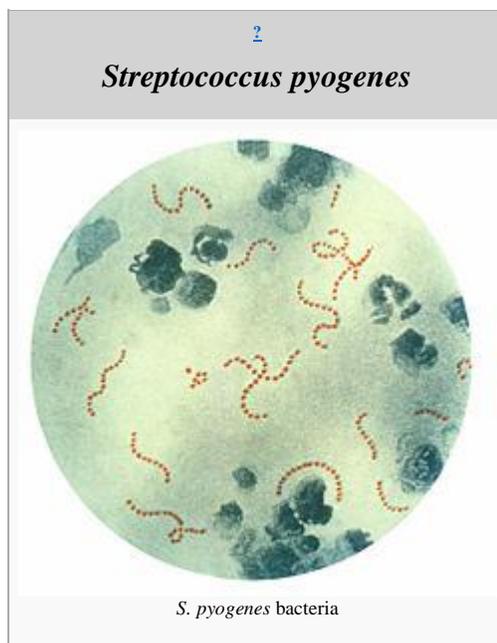
Sirve como una barrera de permeabilidad.

C. CITOPLASMA Y OTROS COMPONENTES INTERNOS:

Contiene los cromosomas, ribosomas y otras estructuras internas.

1.2.6.-STREPTOCOCCUS PYOGENES.-

Streptococcus del grupo A, es una de las bacterias más importantes en patología humana. Este ubicuo organismo es la causa bacteriana mas frecuente de faringitis aguda y también da lugar a una gran variedad de infecciones cutáneas y sistémicas. Ocupa un lugar especial en la microbiología médica por ocasionar dos secuelas no supurativas, fiebre reumática y glomérulo nefritis difusa aguda postestreptocócica.



A. CARACTERES MICROBIOLÓGICOS:

Streptococcus del grupo A (*S. pyogenes*) se presentan microscópicamente como células esféricas u ovoides de 0,6 –1,0 μm de diámetro y se agrupa en pares o cadenas de longitud variable en muestras clínicas, o cuando crece en medios líquidos enriquecidos con suero o sangre. Son, al igual que el resto de los estreptococos, Gram positivos, inmóviles, no formadores de esporas, catalasa negativos y, facultativamente anaerobios.

S. pyogenes es exigente desde el punto de vista nutricional, requiriendo medios enriquecidos con sangre para su desarrollo óptimo. Cuando crece en medios sólidos con sangre se observa alrededor de las colonias grises de 1-2 mm de diámetro un halo de hemólisis beta (pueden existir cepas que no la exhiban, pero es excepcional).

B. COMPONENTES CELULARES:

- a. **La cápsula** es la capa más superficial que envuelve al microorganismo y esta compuesta por ácido hialurónico, encontrándola en los microorganismos solamente cuando están cursando enfermedad en el

huésped. Es un factor de virulencia accesorio que dificulta la fagocitosis por los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos del huésped.

- b. El carbohidrato específico de grupo (carbohidrato C)** esta constituido por un dimero de ramnosa y N-acetilglucosamina.
- c. El mucopéptido (peptidoglican)** que le confiere rigidez a la pared, al cual se unen proteínas, carbohidratos y lipoproteínas. Sus componentes tienen carácter antigénico y pueden contribuir a la patogenicidad.
- d. La proteína M** es uno de los principales factores de virulencia de *S. pyogenes*. Se localiza en estructuras fibrilares confiriéndole a las cepas ricas en ella, resistencia a la fagocitosis por leucocitos polimorfonucleares. Las cepas que no la expresan son avirulentas. *S. pyogenes* puede ser dividido en serotipos basándose en las diferencias antigénicas de la molécula de proteína M. Alrededor de 80 serotipos son reconocidos actualmente.
- e. El factor de opacificación del suero** es otro antígeno estrechamente asociado a la molécula de proteína M. Este factor es una alfa proteinasa que es detectada por su propiedad de opacificar el suero de caballo. No todas las cepas de *S. pyogenes* tipificables por la proteína M poseen este factor. Esta sustancia es un marcador epidemiológico muy útil que ayuda en la clasificación de los estreptococos cuando no es detectable por el tipo de proteína M.
- f. Las proteínas T y R** constituyen otro complejo antigénico que no intervienen en la patogenicidad del microorganismo.
- g. La proteína F**, no fibrilar, juega un rol crítico en el primer paso de la colonización, que es la adherencia de *S. pyogenes* a la molécula de fibronectina, glucoproteína situada en la superficie de las células epiteliales humanas. El ácido lipoteicoico formado por unidades de poliglicerol fosfato unidas a lípidos podría jugar también un rol en la adherencia, en asociación con proteínas de superficie.
- h.** Recientemente se ha descrito una peptidasa unida a la célula que cliva el componente C5 del complemento e inhibe la quimiotaxis de los neutrofilos in vitro e in vivo.

C. PRODUCTOS EXTRACELULARES.-

a. **Hemolisinas:** Existen dos tipos de hemolisinas elaboradas por *S. pyogenes* que se denominan O y S.

a.1 **La estreptolisina O** deriva su nombre de su oxígeno labilidad. Es reversiblemente inhibida por el oxígeno e irreversiblemente por el colesterol. Además de su efecto lítico sobre los eritrocitos, es tóxica sobre una variedad de células y fracciones celulares incluyendo leucocitos polimorfonucleares, plaquetas y lisosomas. La estreptolisina O es producida por casi todas las cepas de *S. pyogenes* (así como por algunos organismos de los grupos C y G) y es antigénica.

a.2 **La estreptolisina S** es una hemolisina producida por los estreptococos en presencia de suero (de ahí "S") o en presencia de una variedad de otras sustancias tales como albúmina, alfa-lipoproteína, RNA. La estreptolisina S no es antigénica. Tiene la capacidad de dañar la membrana de leucocitos, plaquetas y organelos subcelulares. No es inactivada por el oxígeno, pero es termolábil.

Dadas las características de ambas hemolisinas se observa que la hemólisis en la superficie de las placas de agar es debida primariamente a estreptolisina S, en tanto que la hemolisina O exhibe su efecto en la profundidad del agar debajo del desarrollo bacteriano.

b. **La exotoxina pirogenica estreptocócica**, antes conocida como toxina eritrogénica, es responsable del rash de la fiebre escarlatina. Experimentalmente, esta sustancia exhibe una variedad de otras propiedades tóxicas incluyendo pirogenicidad, citotoxicidad y aumento de la susceptibilidad a los efectos letales de la endotoxina. Estos incluyen cuatro enzimas antigenicamente distintas que participan en la degradación de DNA (DNAsas A, B, C y D).

- c. **Hialuronidasa**, que degrada enzimáticamente al ácido hialurónico del tejido conectivo.
- d. **Estreptoquinasa**, la cual promueve la disolución de coágulos al catalizar la conversión del plasminógeno en plasmina.
- e. Otros productos extracelulares son: NADasas, pectinasa, amilasa y esterasa.

D. MANIFESTACIONES CLÍNICAS.-

Las dos manifestaciones clínicas de las infecciones por *S. pyogenes* son la faringitis y la piodermitis.

SEROGRUPO	Antígeno grupo específico de la pared celular	Aspectos clínicos
A	Ramnosa-N-acetil-glucosamina	Faringitis, amigdalitis, escarlatina, erisipela, impétigo, celulitis, secuelas no supurativas: fiebre reumática, glomerulonefritis.

1.2.7.-FARINGOAMIGDALITIS ESTREPTOCÓCCICA:

Es una enfermedad autolimitada, aunque debe siempre realizarse el tratamiento antimicrobiano para prevenir las complicaciones, que afecta con más frecuencia a niños de edades comprendidas entre 5 y 15 años, pero todas las edades son susceptibles. Se transmite de persona a persona por gotitas de secreciones aerosolizadas. El número de microorganismos y su virulencia van disminuyendo desde la fase aguda a la de convalecencia, marcando un distinto grado de infecciosidad.

El cuadro clínico no es específico de la etiología estreptocócica.

A. MANIFESTACIONES CLÍNICAS:

Se presenta con odinofagia de inicio súbito, disfagia importante y fiebre. Son síntomas acompañantes la cefalea, náuseas, vómitos y dolor abdominal.

En el examen físico se puede encontrar congestión de la faringe y amígdalas con o sin exudado, adenopatías cervicales anteriores, petequias en el paladar, úvula congestiva y rash escarlatiniforme.

Son hallazgos sugerentes de infección viral la conjuntivitis, coriza, tos, diarrea y exantema morbiliforme.

No existen elementos de la historia y/o examen físico capaces por si solos de hacer el diagnóstico seguro.

El score de Centor modificado por Mc Isaac es capaz de establecer en forma clínica la probabilidad de estar ante una enfermedad estreptocócica con una sensibilidad de 85% y especificidad de 92% para la población pediátrica y adulta.

Diagnostico de faringitis estreptocócica. Score de Centor modificado por Mc Isaac.

Síntomas y signos	Puntos
Fiebre mayor a 38 C	1
Ausencia de tos	1
Adenopatía cervical anterior sensible	1
Inflamación y/o exudado amigdalino	1
Menor a 5 años	1
Mayor a 45 años	-1

Fuente: Revista Pediatría Electrónica. Facultad Medicina Univ. Chile⁶

B. DIAGNÓSTICO:

Frente a la sospecha clínica, debe realizarse la confirmación etiológica mediante el cultivo faringeo y/o prueba de detección rápida de antígenos.

Los objetivos de un diagnóstico rápido y adecuado son:

- Prevenir la fiebre reumática
- Prevenir las complicaciones supurativas (mastoiditis, absceso retrofaringeo, linfadenitis cervical, etc.)

- Mejorar los síntomas y signos clínicos
- Reducir la transmisión a los contactos cercanos
- Minimizar los potenciales efectos adversos derivados del uso inadecuado de antimicrobianos.

Situaciones en las que estaría especialmente indicado el estudio microbiológico de una faringoamigdalitis aguda:

Niños que presentan una clínica dudosa de etiología estreptocócica.
Niños con alergia a la penicilina, en los que la elección del antibiótico empírico resulta problemática.
En el niño con antecedentes de infecciones recurrentes o fiebre reumática.
En el niño con antecedentes de complicaciones supuradas por infección amigdalar.
Cuando se sospecha difteria.

Fuente: Boletín de Pediatría.1999 España. Dr. Carlos Ochoa Sangrador.

1.2.8.-COMPLICACIONES

Las complicaciones de la faringitis causada por *el Streptococcus pyogenes* se pueden dividir en: supurativas, no supurativas y sistémicas.

A. COMPLICACIONES SUPURATIVAS:

Se observan con poca frecuencia desde el advenimiento de antibiótico terapia efectiva. Entre ellas se citan: absceso y celulitis peri amigdalinos, otitis media y sinusitis.

B. COMPLICACIONES NO SUPURATIVAS:

Fiebre reumática y glomerulonefritis difusa aguda.

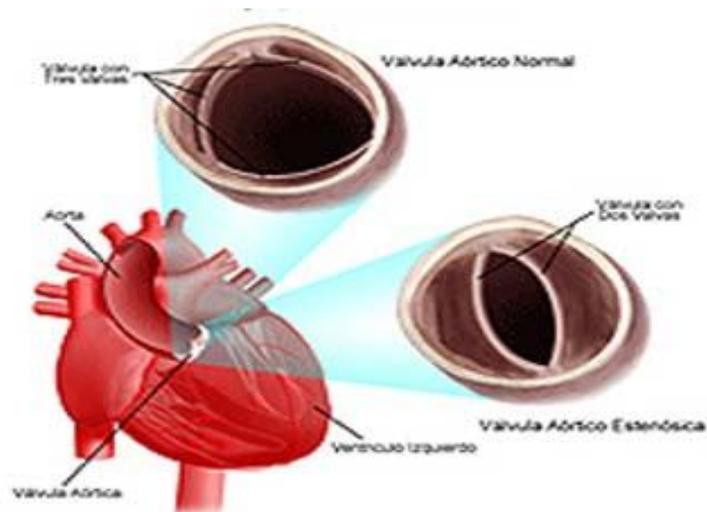
B.1. FIEBRE REUMÁTICA:

La fiebre reumática es una enfermedad caracterizada por producir lesiones inflamatorias no supuradas que involucran el corazón, tejidos subcutáneos, y el sistema nervioso central.

En su forma clásica es una enfermedad de curso agudo, febril y autolimitada.

La fiebre reumática es una secuela post-estreptocócica posterior a una infección respiratoria alta debida a *S. pyogenes*. Esto esta apoyado por varios hechos:

- hay una relación temporal entre epidemias de infecciones faringicas por *S. pyogenes* y epidemias de fiebre reumática.
- La mayoría de pacientes con fiebre reumática tienen un antecedente reciente de faringitis.
- En pacientes con fiebre reumática se detectan anticuerpos antiestreptococicos que revelan infección reciente.
- El uso continuo de antimicrobianos profilácticos que disminuyen las faringitis por *S. pyogenes* recurrentes, se acompaña de una disminución de fiebre reumática en los pacientes.



B.2. GLOMERULONEFRITIS DIFUSA AGUDA.

Es una afección aguda de los glomérulos renales que esta caracterizada anatomico-patológicamente por lesiones proliferativas difusas de los glomérulos y clínicamente por edema, hipertensión, hematuria y proteinuria.

Es una secuela no supurada de infecciones faringeadas o cutáneas causadas por ciertas cepas de *S. pyogenes*. Al igual que en la fiebre reumática, no se conoce el mecanismo exacto por el cual se produce la afección.

El diagnostico se hace en base a la clínica y a evidencias de infección estreptocócica reciente. Esta ultima, en base a historia previa de escarlatina, infección faringea por *S. pyogenes* o por demostración de títulos elevados de Ac antiestreptococcicos.

C. COMPLICACIONES SISTEMICAS:

La sepsis y el síndrome de shock toxico postestreptocócico.

Al margen del *S. pyogenes*, las principales bacterias implicadas en la etiología de infecciones faringoamigdalares son *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*.¹⁵

1.2.9.-GENERO STAPHYLOCOCCUS.-

Los estafilococos mas virulentos pueden coagular el plasma (coagulasa positivos), los menos virulentos son incapaces de hacerlo (coagulasa negativos). El único estafilococo coagulasa positivo patógeno de importancia para el hombre es *S. aureus*.

A. CARACTERES MICROBIOLÓGICOS

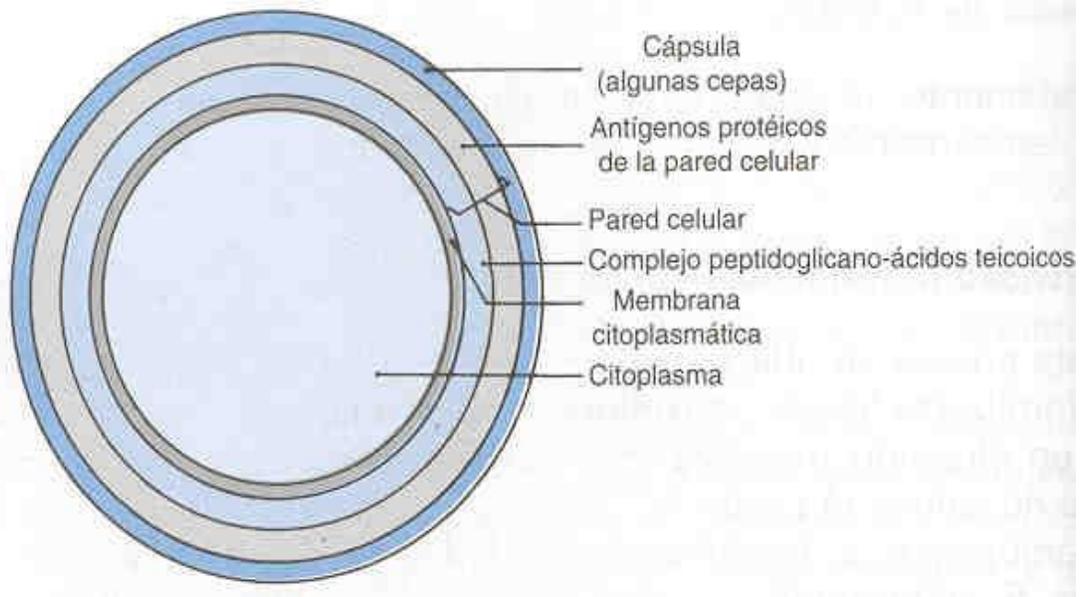
- Son cocos Gram positivos, de 0,5 – 1,5 um de diámetro. Son inmóviles, no esporulados y se encuentran aislados en pares, tétradas, cadenas cortas y en forma irregular de racimo de uva.
- Existe morfología macroscópica en medio líquido y en medio sólido.
- En medio líquido debemos observar la turbidez que se desarrolla luego de incubar 18 – 24 horas.
- En medio sólido debemos contar con un aislamiento de la cepa a estudiar en una placa de Petri. El aislamiento nos permitirá observar las características de las colonias, que son las estructuras macroscópicas que forman las bacterias cuando crecen en medios sólidos.
- Los estafilococos son catalasa positivos y anaerobios facultativos.
- Tienen metabolismo activo y fermentan los azúcares. Son resistentes a los desinfectantes químicos, a la desecación y a concentraciones altas de NaCl (12%).
- Producen pigmentos: blanco- amarillo dorado- naranja oscuro.
- Causan procesos supurativos (piógenos).
- Desarrollan resistencia a los antibióticos.
- Comprende 32 especies y 10 subespecies.
- El género *Staphylococcus* es no exigente en cuanto a sus requerimientos nutricionales, por lo tanto crece en medios de cultivo pobres.

B. ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Su estructura antigénica consta de:

- Peptidoglicano
- Ácidos teicoicos, como glicerol y ribitol
- Proteína A, que compone la pared celular
- Cápsula

- Leucocidina, proteína soluble que lisa leucocitos
- Enterotoxina, proteína soluble, termoestable, con 7 tipos antigénicos
- Toxina exfoliativa
- Exotoxina de shock toxico.



C. ENZIMAS EXTRACELULARES:

- **COAGULASA**, la acción de la coagulasa en la coagulación del plasma es similar a la conversión de fibrinógeno en fibrina, catalizada por trombina. Se considera que la producción de coagulasa es sinonimia del potencial invasor patógeno.
- **CATALASA**, los estafilococos producen catalasa, que convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.
- **LIPASAS**, las cuales son activas sobre una variedad de sustratos, incluyendo plasma, grasas y aceite que se acumulan en las superficies del cuerpo, lo cual explica la intensa colonización del estafilococo por las áreas sebáceas de mayor actividad.

- **HIALURONIDASA**, esta enzima hidroliza el ácido hialurónico presente en la sustancia intracelular del tejido conectivo facilitando la diseminación del tejido conectivo y facilitando la diseminación de la infección.
- **ESTAFILOQUINASA** (fibrinolisisina) enzima producida por ciertas cepas de estafilococos que cataliza la conversión del plasminógeno en plasmina en diversos huéspedes animales.
- **NUCLEASA**, la elaboración de una nucleasa resistente al calor parece estar asociada con cepas de *S. aureus*. Se halla en la célula, en la superficie celular o cerca de ellas.

D. TOXINAS ESTAFILOCÓCICAS

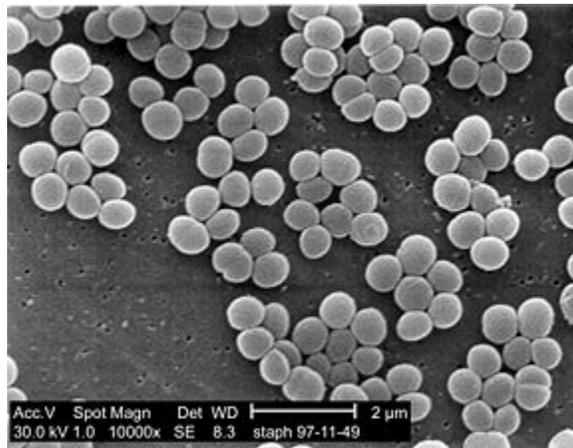
- **TOXINAS CITOLITICAS**, existen varias toxinas.
 - La toxina alfa (hemolisina) es una proteína que puede producir lisis de los eritrocitos ;y lesionar las plaquetas.
 - La toxina beta degrada a la esfingomielina y es tóxica para muchas clases de células, incluso los eritrocitos.
 - Leucocidinas, Esta toxina del *S. aureus* pueden matar a los leucocitos expuestos de muchos animales.
- **ENTEROTOXINAS**, hay por lo menos 6 toxinas solubles designadas de la A-F producidas por el *S. aureus*. Las enterotoxinas son termoestables resisten la ebullición por 30 minutos y a la acción de las enzimas intestinales. Son causas importantes del envenenamiento con alimentos.
- **TOXINA EXFOLIATIVA O EPIDERMOLITICA**, esta toxina del *S. aureus* está constituida por lo menos dos proteínas que

producen la descamación generalizada del síndrome estafilocócico de piel escaldada.

E. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Es un coco Gram positivo, que se agrupa en forma de racimos, se caracteriza por ser catalasa positivo, coagulasa positivo y fermentar el manitol.

Es un importante patógeno de los seres humanos, que causa una gran variedad de síndromes clínicos.



E.1. ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR *S. AUREUS*:

a. INTOXICACION ALIMENTARIA:

Mediada por enterotoxinas que producen diarreas, vómitos, náuseas y espasmos abdominales dolorosos; se produce por consumo de alimentos contaminados con *S. aureus*. El tiempo de incubación de la enfermedad es muy corto: de dos a seis horas. El tratamiento con antibióticos no es útil debido a que los síntomas son causados por una toxina y no por la multiplicación de las bacterias.



b. SINDROME DEL SHOCK TOXICO:

Es causado por cepas de *S. aureus* que producen la toxina asociada al síndrome del shock tóxico, la cual es absorbida por el torrente sanguíneo produciendo fiebre elevada, erupciones color rojo brillante por todo el cuerpo y ocasionando una disminución de la presión sanguínea. Es una infección prácticamente mortal y se cree que es debida al uso de tampones durante el periodo menstrual.

c. IMPÉTIGO.-

Es una infección de la piel caracterizada por ampollas que pueden estar localizadas en cualquier parte del cuerpo, aunque por lo general se observan alrededor de la nariz o la boca. Puede ser causado por uno de dos tipos de bacterias: *S. pyogenes* y *S. aureus*.

- Se presenta generalmente en niños y adultos jóvenes, y en adultos puede aparecer como una infección posterior a otros problemas cutáneos o una infección del aparato respiratorio superior.
- Es más común que se presente durante los meses húmedos y calurosos del verano.

- Se transmite de persona a persona por contacto directo con la secreción de las ampollas.
- Los primeros síntomas aparecen entre cuatro y diez días después de la exposición.
- Aparece una erupción o úlceras rojas irritantes que forman ampollas, que después rezuman líquido. Estas úlceras pueden aumentar de tamaño y diseminarse. Cuando las ampollas se rompen, forman una costra plana de color miel.



**d. INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR
R INFERIOR:**

- Puede ser un patógeno o co-patógeno, produciendo diversas infecciones tales como: faringitis y neumonía.

e. OTRAS INFECCIONES:

- Además del impétigo puede producir otros daños en la piel, separando el estrato granuloso del córneo dando el signo de piel escaldada como: enfermedades comunes de la piel y forúnculos.
- Endocarditis bacteriana: puede producir insuficiencia cardiaca, siendo la endocarditis en humanos la más frecuente, subsecuente a la infección por *Staphylococcus aureus*.

1.2.10.-FLORA NORMAL

Se denomina flora normal a las poblaciones de microorganismos que normalmente colonizan la piel y las membranas mucosas del ser humano. La flora normal se adquiere con rapidez durante y poco después del nacimiento, y cambia de forma continua a lo largo de la vida.

FLORA NORMAL DE LA FARINGE

<i>Actinomyces</i> <i>Bacteroides</i> <i>Branhamella</i> <i>Campylobacter</i> <i>Candida</i> <i>Corynebacterium</i>	<i>Enterobacter</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Haemophilus</i> <i>Klebsiella</i> <i>Mycoplasma</i> <i>Neisseria</i>	<i>Peptococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Proteus</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

***Staphylococcus epidermidis*:**

- Es un estafilococo coagulasa negativo.
- Se encuentra frecuentemente en la piel de humanos y animales y en membranas mucosas.
- Es susceptible al antibiótico de novobiocina, la cual es una característica que lo diferencia de *S. saprophyticus*.

- Es no patogénico, pero ocasiona infecciones en pacientes inmunodeprimidos, o que presentan infecciones por catéteres.
- Es resistente a penicilina y meticilina.
- Se le identifica porque crece bien en medio de manitol salado, pero no lo fermenta, por lo cual el medio se queda de color rojo.

Streptococcus agalactiae:

- Flora normal que a veces puede colonizar las vías respiratorias superiores.
- Es un estreptococo beta hemolítico del grupo B, por lo que al crecer en un medio enriquecido con sangre produce una hemólisis completa de los glóbulos rojos.
- Se le diferencia de *S. pyogenes* mediante la prueba de CAMP, la cual es positiva cuando se trata de *S. agalactiae*.

Streptococcus pneumoniae:

- Coloniza la nasofaringe de seres humanos, puede ocasionar un posible desarrollo ulterior de infección.
- En el caso de la neumonía, se produce la aspiración del microorganismo hacia los pulmones.
- Es sensible a optoquina, mas no a bacitracina, lo cual sirve para diferenciarlo de *S. pyogenes*.
- Es alfa hemolítico porque hemoliza parcialmente los glóbulos rojos.

Streptococcus viridans:

- Flora normal de la cavidad oral humana, tracto gastrointestinal y aparato genital femenino.
- Son estreptococos alfa hemolíticos, pues producen una hemólisis parcial de la sangre.
- Se caracterizan por no ser sensible ni a bacitracina ni a optoquina.
- Existen por lo menos 20 especies de estreptococos del grupo viridans.

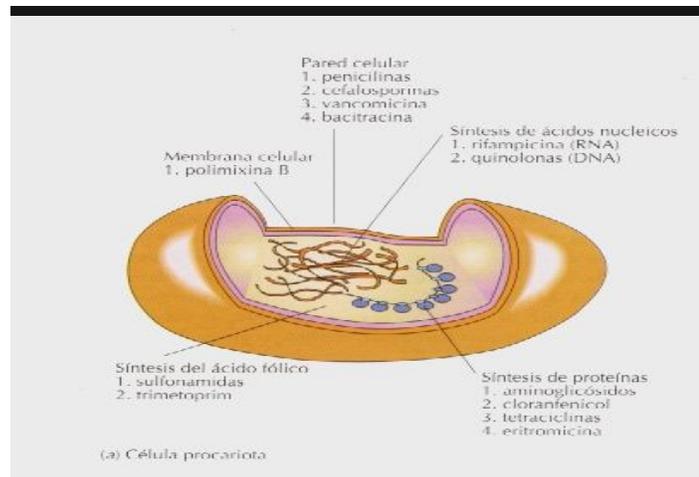
1.3.-AGENTES ANTIMICROBIANOS

A. MODOS DE ACCION DE LOS ANTIMICROBIANOS

Cada tipo de agente antimicrobiano tiene un modo de acción único.

Para entender como actúan los agentes antimicrobianos es necesario explicar algunas características básicas de la estructura celular bacteriana y como funcionan los blancos de los antimicrobianos en la célula bacteriana.

A pesar que las estructuras de las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas son similares, existen algunas diferencias claves. Estas diferencias son las bases de la capacidad que tiene un agente antimicrobiano para inhibir el crecimiento ya sea de bacterias Gram-positivas o Gram-negativas. Sin embargo, algunos agentes actúan en ambos tipos de bacteria y estos a menudo se conocen como agentes de amplio espectro.



B. AGENTES BACTERIOSTATICOS VS. BACTERICIDAS

Los agentes bacteriostáticos inhiben el crecimiento y multiplicación de las bacterias. A partir de la exposición a un agente bacteriostático, las células en una población susceptible cesan su división. Sin embargo, si el agente es retirado, las células vuelven a multiplicarse.

Los agentes bactericidas, no solo inhiben el crecimiento de las células sino también desencadenan mecanismos dentro de la célula que conducen a la muerte celular. Las acciones de los agentes bactericidas son irreversibles, por tanto una vez que las células susceptibles son expuestas al agente bactericida, estas mueren.

C. MECANISMOS DE ACCION DE LOS ANTIMICROBIANOS

Los agentes antimicrobianos se clasifican de acuerdo a sus modos específicos de acción contra las células bacterianas.

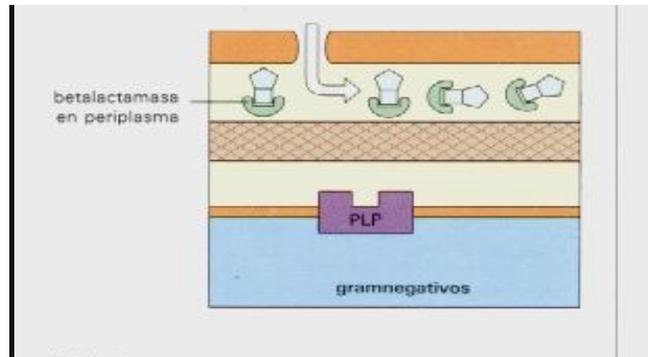
Los modos de acción de los agentes antimicrobianos contra las bacterias Gram.-positivas y Gram.-negativas son muy similares.

C.1. INTERFERENCIA CON LA SÍNTESIS DE LA PARED CELULAR:

Los agentes antimicrobianos que interfieren con la síntesis de la pared celular bloquean la síntesis del peptidoglicano y por tanto son activos contra bacterias en crecimiento. Estos agentes son bactericidas.

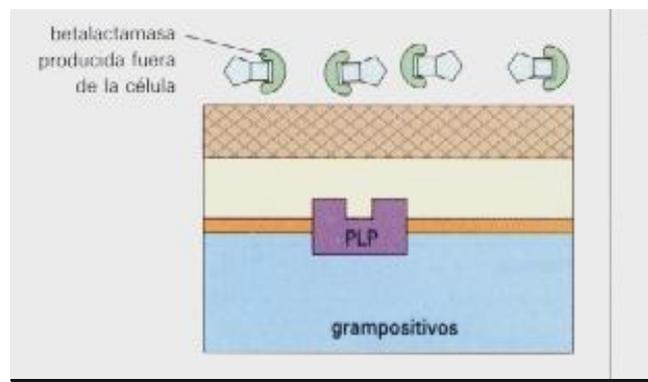
a. ACTIVIDAD DE LOS BETA LACTÁMICOS EN BACTERIAS GRAM NEGATIVAS:

Los antimicrobianos beta lactamicos entran a la célula a través de los canales porinicos de la membrana externa. En las células susceptibles, las moléculas beta lactamicas se unen a las proteínas de unión de penicilina, que son enzimas necesarias para la síntesis de la pared celular. La unión de las moléculas beta lactamicas a estas proteínas ubicadas en la superficie de la membrana citoplásmica, bloquea su función. Esto produce paredes celulares debilitadas o defectuosas y conduce a lisis celular y muerte.



b. ACTIVIDAD DE LOS BETA LACTÁMICOS EN BACTERIAS GRAM POSITIVAS:

Puesto que las bacterias Gram.-positivas no poseen una membrana externa, los antimicrobianos beta lactamicos se difunden a través de la pared celular. En las células susceptibles, las moléculas beta lactamicas se unen a las proteínas de unión a penicilina, lo que resulta en paredes celulares debilitadas y lisis celular.



C.2. INTERFERENCIA CON LA MEMBRANA CITOPLÁSMICA:

Las moléculas de polimixina se difunden a través de la membrana externa y pared celular de células susceptibles hacia la membrana citoplásmica. Estas se unen a la membrana citoplásmica y la alteran y desestabilizan. Esto causa el derrame del citoplasma hacia el exterior de la célula lo que resulta en muerte celular. Estos agentes son bactericidas.

C.3. INTERFERENCIA CON LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS MEDIANTE EL ENLACE A LA SUBUNIDAD RIBOSÓMICA 30S:

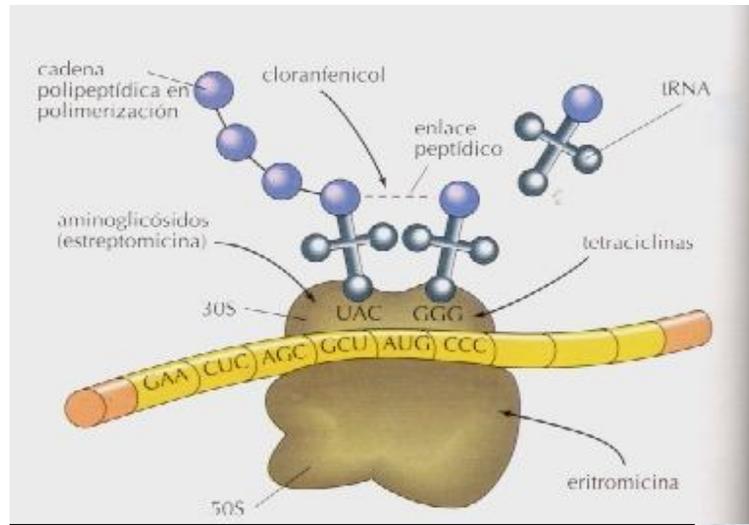
Las tetraciclinas (como tetraciclina, minociclina y doxiciclina) se unen a la subunidad 30S del ribosoma y bloquean la adherencia del RNA de transferencia (t RNA). Puesto que no se pueden agregar más aminoácidos a la cadena de proteínas que esta en crecimiento, la síntesis de proteínas es inhibida. La acción de las tetraciclinas es bacteriostática.

Los aminoglicosidos (como gentamicina, tobramicina, amikacina y estreptomycin) también se unen a la subunidad 30S del ribosoma y pueden bloquear la síntesis de proteínas de dos maneras diferentes.

En primer lugar estos se pueden adherir a la subunidad 30S del ribosoma y prevenir que esta se adhiera al RNA mensajero (m RNA).

Segundo, la presencia del aminoglicosido en el ribosoma podría provocar la lectura errada del m RNA. Esto resulta en la inserción de aminoácidos erróneos en la proteína o en la interferencia con la capacidad de los aminoácidos para conectarse unos con otros.

Estas actividades por lo general ocurren de manera simultánea y el efecto total es bactericida.



C.4. INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS MEDIANTE LA UNIÓN A LA SUBUNIDAD RIBOSÓMICA 50S:

Los macrólidos (eritromicina, azitromicina y claritromicina) y las lincosamidas (clindamicina) se adhieren a la subunidad ribosómica 50 S provocando la terminación del crecimiento de la cadena proteica y la inhibición de la síntesis de proteínas. Estos son primordialmente bacteriostáticos.

El cloranfenicol también se une a la subunidad 50S del ribosoma e interfiere con la unión de aminoácidos a la proteína en crecimiento. Los agentes antimicrobianos que inhiben la síntesis de proteína de esta forma son bacteriostáticos.

C.5. INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS MEDIANTE MECANISMOS QUE AL MOMENTO ESTAN EN INVESTIGACIÓN:

La linezolidina (una oxazolidinona) es un nuevo potente inhibidor de la síntesis de proteínas. Es activa contra una gran variedad de bacterias Gram-positivas pero no tiene una actividad clínicamente útil contra las bacterias Gram.-negativas.

C.6. INTERFERENCIA CON LA SÍNTESIS DE ÁCIDO NUCLEICO :

Es causada por dos tipos de agentes antimicrobianos:

Las fluoroquinolonas (ácido nalidixico, ciprofloxacina, levofloxacina y gemifloxacina) interfieren con las síntesis de ADN bloqueando la enzima ADN girasa. La ADN girasa ayuda a enrollar y desenrollar el ADN durante la replicación de ADN. La enzima se adhiere al ADN e introduce rupturas dobles en las cadenas que permiten al ADN desenrollarse. Las fluoroquinolonas se unen al complejo ADN girasa-ADN y permiten a las cadenas de ADN rotas liberarse dentro de la célula lo que conduce a la muerte celular.

La rifampicina se une a la ARN polimerasa ADN dependiente lo que bloquea la síntesis de ARN y resulta en la muerte de la célula.

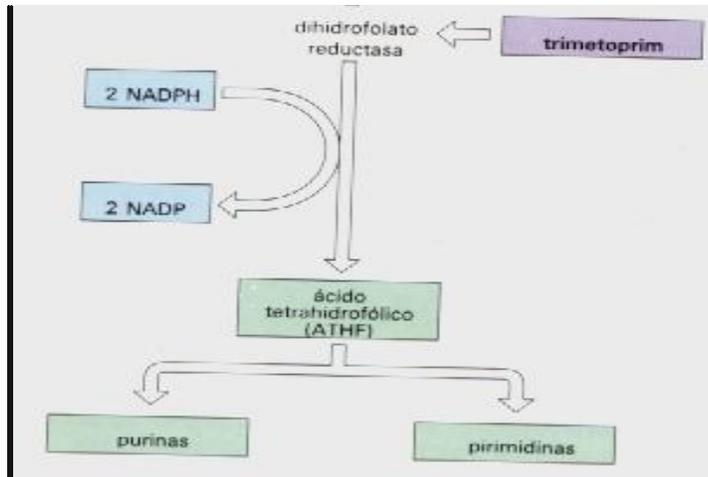
C.7. INHIBICIÓN DE LA RUTA METABÓLICA DE LA SÍNTESIS DE ÁCIDO FÓLICO:

Para muchos organismos el ácido para-amino benzoico (PABA) es un metabolito esencial y está involucrado en la síntesis de ácido fólico, un importante precursor para la síntesis de ácidos nucleicos.

Las sulfonamidas son estructuras análogas del PABA y compiten con el PABA por la enzima dihidropteroato sintetasa.

La trimetoprima actúa en la ruta de síntesis del ácido fólico en un punto posterior al de las sulfonamidas. Este inhibe la enzima dihidrofolato reductasa.

La trimetoprima y las sulfonamidas se pueden usar por separado o en conjunto. Cuando se usan en conjunto producen un bloqueo secuencial de la ruta de síntesis del ácido fólico y tienen un efecto sinérgico. Tanto la trimetoprima como las sulfonamidas son bacteriostáticas.



D. SELECCIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS

La selección de los antimicrobianos a utilizar es una decisión conjunta del laboratorio de microbiología, equipo de infectología, comité de infecciones intrahospitalarias y farmacia.

La selección de antimicrobianos en el estudio de susceptibilidad in vitro tiene como objetivo disponer de un adecuado apoyo en la elección de las terapias antimicrobianas, al igual que promover su uso racional.

En la selección de antimicrobianos para el estudio de susceptibilidad in vitro debemos reconocer los siguientes fundamentos:

- **Microbiológicos:** donde priman las características estructurales y genéticas de cada microorganismo determinando así patrones de resistencia, tanto natural como adquirida, frente a algunos antimicrobianos.
- **Farmacológicos:** características de los antimicrobianos que determinan su mecanismo de acción y espectro antibacteriano. También contempla propiedades farmacológicas tales como vía de administración, características farmacocinéticas y de biodisponibilidad.
- **Técnicos:** condiciones necesarias para obtener datos confiables y extrapolar los resultados obtenidos en el estudio de susceptibilidad in vitro hacia la respuesta clínica.

Para lo anterior se requiere:

- Contar con una técnica estandarizada.
- Reconocer las limitaciones de la técnica de difusión en agar.
- Adecuar el estudio de acuerdo al agente causal y al sitio de infección.

Con el fin de poder adecuar el estudio a las necesidades de cada laboratorio, se han definido tres tipos de estudio:

- **Estudio primario esencial:** Informe básico orientado a una terapia ambulatoria, que incluye los antimicrobianos esenciales de acuerdo a cada microorganismo; esta dirigido principalmente a satisfacer las necesidades en infecciones no severas, adquiridas en la comunidad.
- **Estudio primario adicional:** Incluye antimicrobianos de uso hospitalario, los que se adecuan de acuerdo a los patrones de susceptibilidad institucional.
- **Estudio complementario:** Comprende antimicrobianos de uso excepcional y esta restringido para cepas con resistencia múltiple o bien, como información adicional en el marco de una vigilancia epidemiológica de resistencia.

CARACTERÍSTICAS DE LOS ANTIMICROBIANOS A ENSAYAR

- Deben ser fármacos aprobados por la FDA.
- De eficacia clínica demostrada para el microorganismo en estudio.
- Factibles de evaluar in vitro.

1.4.-MECANISMOS DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

Hay una serie de formas en que los microorganismos son resistentes a los agentes antimicrobianos.

Estos incluyen:

- la bacteria produce enzimas que destruyen el agente antimicrobiano antes que este alcance su blanco o modifica el agente antimicrobiano de tal forma que ya no puede ser reconocido por su blanco.
- la pared celular se vuelve impermeable al agente antimicrobiano.
- el sitio de ataque es alterado por mutación de tal manera que ya no permite la unión del agente antimicrobiano.
- la bacteria posee una bomba de eflujo que expelle al agente antimicrobiano de la célula antes que este alcance su blanco.
- rutas metabólicas específicas dentro de la bacteria son alteradas genéticamente para que el agente antimicrobiano no pueda provocar un efecto.

A. PRODUCCIÓN DE ENZIMAS

Las beta-lactamasas son enzimas que hidrolizan los agentes antimicrobianos beta-lactámicos. Como resultado la célula es resistente a la acción de los medicamentos beta lactámicos. Pueden ser producidas tanto por bacterias Gram-negativas como Gram-positivas.

Enzimas que modifican los amino glucósidos: Las bacterias Gram.-negativas pueden producir enzimas adenilantes, fosforilantes o acetilantes que modifican un aminoglucosido para inactivarlo.

Cloranfenicol acetil transferasa: Las bacterias Gram.-negativas pueden producir una acetil transferasa que modifica al cloranfenicol para inactivarlo.

B. IMPERMEABILIDAD DE LA MEMBRANA BACTERIANA EXTERNA

Alteración de porinas en bacterias Gram.-negativas: las bacterias pueden volverse resistentes a los antibióticos beta-lactámicos mediante el desarrollo de barreras de permeabilidad. Cuando los beta-lactámicos no pueden alcanzar las PBPs, la célula es resistente.

C. ALTERACIÓN DE LOS BLANCOS

Las PBPs tanto en bacterias Gram.-positivas y Gram.-negativas pueden ser alteradas mediante mutación de manera que los beta-lactámicos no puedan unirse a ellas, por tanto la célula es resistente a agentes antimicrobianos.

D. BOMBAS DE EFLUJO

Una amplia variedad de bombas de eflujo proveen resistencia antimicrobiana tanto en bacterias Gram.-positivas como en Gram.-negativas. El eflujo activo de antibióticos es mediado por proteínas transmembrana insertadas en la membrana citoplásmica y, en el caso de los organismos Gram.-negativos involucra también componentes en la membrana externa y periplasma. Estas proteínas forman canales que exportan activamente a un agente antimicrobiano fuera de la célula tan rápido como entra.

E. ALTERACIÓN DE RUTAS METABÓLICAS

Algunos microorganismos desarrollan una ruta metabólica alterada que elude la reacción inhibida por el antimicrobiano. Mutaciones que inactivan la timidilato sintetasa bloquean la conversión de deoxiuridilato a timidilato. Estos mutantes requieren timina o timidina exógena para la síntesis de ADN y por ende son resistentes a los antagonistas de la ruta del folato como las sulfonamidas y trimetoprima.

F. OTROS MECANISMOS

Los ribosomas. La metilación del ARN ribosómico confiere resistencia a los macrólidos.

Mutaciones en los genes cromosómicos de ADN girasa y topoisomerasa IV confieren resistencia a las quinolonas.

1.5. RESISTENCIA INTRÍNSECA VS. ADQUIRIDA

En algunas especies la resistencia antimicrobiana es una propiedad intrínseca o innata. Esta resistencia intrínseca podría deberse a uno o mas de los mecanismos de resistencia anteriormente descritos.

Las bacterias también pueden adquirir resistencia a los agentes antimicrobianos por eventos genéticos como mutación, conjugación, transformación, transducción y transposición.

- A. **MUTACIÓN:** La resistencia cromosomica se desarrolla como resultado de una mutación espontánea en un locus que controla la susceptibilidad a un determinado agente antimicrobiano. La mutación espontánea ocurre con una frecuencia relativamente baja, pero cuando las bacterias son expuestas a los agentes antimicrobianos, solo las células mutantes sobreviven. Entonces estas se multiplican y resultan en la aparición de una población resistente. Las mutaciones espontáneas también podrían ocurrir en plasmidos. Por ejemplo, mutaciones en plasmidos que contienen genes para enzimas beta-lactamasas pueden resultar en beta-lactamasas alteradas por lo general con mayor espectro de actividad.

- B. **CONJUGACIÓN:** Las bacterias con frecuencia contienen elementos genéticos extracromosomicos llamados plasmidos, muchos de los cuales llevan genes de resistencia antimicrobiana. Cuando dos células bacterianas se encuentran cerca, una estructura similar a un puente conocida como pilus se puede formar entre ellas. Esto permite que una copia del plasmido se replique y transfiera de una célula a la otra. El resultado es una bacteria que expresa la resistencia antimicrobiana codificada en el plasmido.

- C. **TRANSFORMACIÓN:** Las bacterias podrían encontrar fragmentos desnudos de ADN que transportan genes de resistencia antimicrobiana. Estos fragmentos son introducidos en la célula mediante un proceso denominado transformación. El fragmento de ADN es incorporado en el

cromosoma de la célula huésped por recombinación y la célula resultante es resistente.

D. **TRANSDUCCIÓN:** Cuando los virus bacterianos (bacteriófagos) se están multiplicando en el citoplasma de una bacteria, fragmentos de ADN de plásmidos o cromosomas podrían por casualidad empacarse en una cápsula viral y entrar en otra célula huésped. Cuando los fragmentos contienen genes de resistencia a un agente antimicrobiano estos pueden traspasar la resistencia a la nueva célula huésped.

E. **TRANSPOSICIÓN:** Los transposones son secuencias genéticas especializadas “móviles” que tienen la capacidad de moverse de un área del cromosoma bacteriano a otra o entre cromosomas y plásmidos o ADN de bacteriófagos. Los transposones de ADN pueden estar incorporados a plásmidos y de esa manera transportar genes de resistencia antimicrobiana. Algunos transposones son capaces de moverse de una bacteria a otra sin incorporarse a un cromosoma, un plásmido o un bacteriófago.

1.6. MECANISMOS DE RESISTENCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* A ANTIBIÓTICOS BETA-LACTÁMICOS:

Se han descrito tres mecanismos que explican la resistencia de *S. aureus* a beta-lactámicos: hiperproducción de beta-lactamasa, modificación de las PBPs y resistencia intrínseca a meticilina.

- **Hiperproducción de beta-lactamasa o resistencia borderline** (borderline resistant *Staphylococcus aureus*)

Su mecanismo es una hiperproducción de penicilinas estafilococcica normal, mediada por plásmidos. Estas cepas producen altas cantidades de enzima, lo que hace que oxacilina y meticilina, que fueron desarrolladas para resistir la

acción hidrolítica de la penicilinasas, sean lentas, aunque apreciablemente degradadas. Se cree que la acción de resistencia no es solo debida a una hiperproducción, sino también a una nueva beta-lactamasa cuyo gen no se ha identificado aun.¹⁶

- **Modificación de las PBPs** (modified *S. aureus*):

Corresponde a una modificación mínima de las proteínas de unión a penicilina 1, 2 y 4 de peso molecular normal pero con baja afinidad por antibióticos beta-lactámicos.

- **Resistencia intrínseca a metilina:**

- Este tipo de resistencia se debe a la incorporación en el ADN bacteriano de un gen, el *mecA*. Este gen es un trozo de ADN cromosomal adicional de 30 a 40 Kb, que posee dos elementos regulatorios (*mecR1* y *mecRI*) que controlan la transcripción del gen *mecA*.¹⁶

CAPITULO II: MATERIAL Y MÉTODOS

2.1.- MATERIAL

2.1.1.- Material Biológico

A. Exudado faringeo

Cien muestras de exudado faringeo obtenidas de pacientes pediátricos de 0 a 12 años con diagnóstico presuntivo de faringitis y faringoamigdalitis aguda que acudieron al servicio de Pediatría, consultorios I y II durante las mañanas y tardes, del Hospital Regional Arequipa Julio Pinto Manrique, XI – DIRTEPOL durante los meses de Diciembre de 2007, Enero, Febrero y Marzo de 2008.

B. Bacterias en estudio

Las cepas bacterianas en estudio son cocos Gram positivos patógenos a nivel de faringe y amígdalas.

2.1.2.- Material de laboratorio, Equipos, Reactivos y Medios de cultivo.

A. Material de vidrio:

- Tubos de ensayo (13x100 mm, 16x150 mm)
- Placas Petri (100x15 mm)
- Matraces de 250 ml y 500 ml
- Láminas portaobjetos.
- Baguetas.
- Probetas de 100 y 250 ml.
- Puente para coloración.

B. Material anexo:

- Reglas y marcador indeleble.
- Bajalenguas.
- Hisopos largos de algodón.
- Gradillas para tubos de ensayo.
- Bata de laboratorio.
- Asas de siembra.
- Guantes.
- Algodón.
- Papel kraft.
- Espátula.
- Sensidiscos de antibioticos, marca Biodisc.

C. Equipos:

- Estufa de incubación, marca MCH.
- Autoclave, Electric Steroclave.
- Refrigerador marca Coldex.
- Microscopio Wesco.
- Horno de esterilización, marca Memmert.
- Balanza.

D. Reactivos:

- Reactivos para coloración de Gram:
Cristal violeta, lugol, alcohol acetona y safranina.
- Aceite de inmersión.
- Peroxido de hidrogeno al 3%
- Suero fisiológico.
- Plasma citratado.
- Standard de Mc Farland:
0,5 ml BaCl₂ 0,048 M y 99,5 ml de H₂SO₄ 0,36N

E. Medios de cultivo:

- Medio de transporte de tioglicolato. MERCK.
- Agar base sangre. DIFCO.
- Agar manitol salado. MERCK.
- Agar Mueller Hinton. MERCK.

2.1.3.- Ambientes de trabajo:

- Consultorios externos I y II de Pediatría del Hospital Regional Arequipa Julio Pinto Manrique XI – DIRTEPOL.
- Laboratorio Clínico del Hospital Regional Julio Pinto Manrique XI – DIRTEPOL.

2.2.- MÉTODOS

2.2.1.- NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

Es un estudio de tipo descriptivo, prospectivo y de corte transversal, su propósito principal es identificar los agentes etiológicos Gram positivos, causantes de faringitis y faringoamigdalitis aguda en pacientes pediátricos de nuestra comunidad y realizar antibiogramas con sensidiscos de antibióticos.

2.2.2.- CRITERIOS.-

• CRITERIO DE INCLUSION.-

Se seleccionaron pacientes pediátricos con el diagnóstico de faringitis y faringoamigdalitis aguda, que acudieron al servicio de Pediatría del Hospital Regional Arequipa Julio Pinto Manrique XI – DIRTEPOL durante los meses de Diciembre de 2007, Enero, Febrero y Marzo de 2008.

- **CRITERIO DE EXCLUSION.-**

No se eligieron pacientes que recibieron tratamiento antibiótico previo a la consulta médica, con la finalidad de evitar resultados falsos negativos.

2.2.3.-ESTRATIFICACION DE LA MUESTRA

Se tomaron 100 muestras, las cuales se dividieron en 4 grupos:

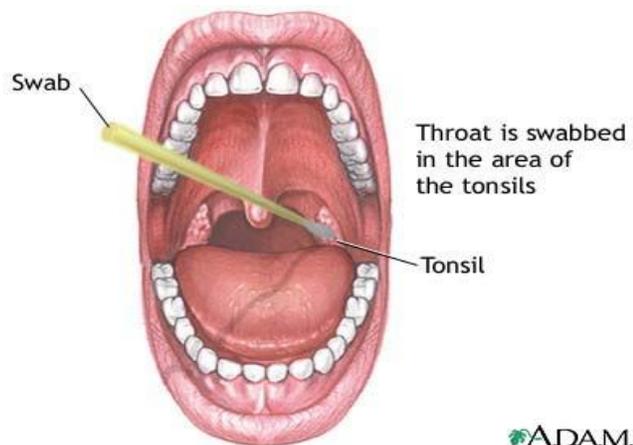
- de 0 a 3 años
- de 3 a 6 años
- de 6 a 9 años
- de 9 a 12 años

2.2.4.- PROCEDIMIENTO

A. TOMA DE MUESTRA:

a. SECRECIÓN FARINGEA

- Utilizar un baja lenguas para visualizar la faringe.
- Frotar el hisopo en ambas amígdalas y en la faringe posterior.
- Retirar el hisopo sin tocar la mucosa oral.



B. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Se enviara la muestra al laboratorio en una torunda con medio de transporte de tioglicolato.

La muestra se trasladara lo más rápidamente posible al laboratorio después de su obtención.

Se procede a tomar la muestra por duplicado, una para observar con Gram al microscopio y la otra para sembrarla en los siguientes medios de cultivo:

- Agar manitol salado.
- Agar sangre al 5%.



- Agar chocolate:



C. SIEMBRA

Se realizará de la siguiente manera:

- Con la torunda se procederá a la inoculación de la muestra en una placa de agar sangre al 5% y en otra de agar chocolate.
- Rotar toda la superficie de la torunda sobre el primer cuadrante de la placa donde se inocular la muestra.
- A continuación extender la muestra con un asa estéril por los tres cuadrantes restantes de la placa, con el fin de obtener colonias bien aisladas.
- Finalmente se harán varias incisiones en el medio de agar sangre con la misma asa utilizada para la siembra, para favorecer la visualización de las hemólisis.

Condiciones de incubación

- Incubar en estufa a 35°C durante 24 – 48 horas.

Luego:

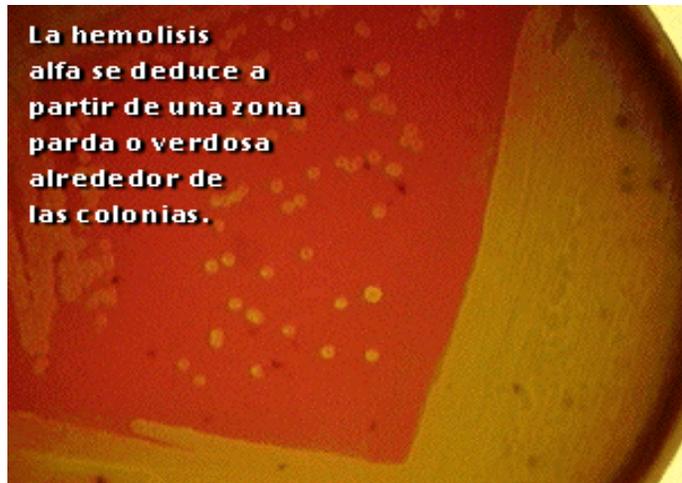
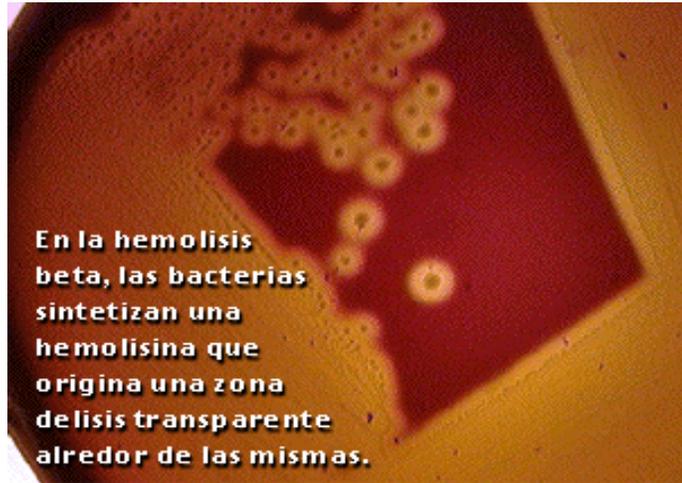
- Con una segunda torunda se procede a inocular la muestra en un tubo con medio de manitol salado.
- Incubar a 37°C durante 24 – 48 horas.

D. LECTURA DE LAS SIEMBRAS

Examinar las placas a las 24 horas de incubación, si no existe crecimiento bacteriano prolongar la incubación 24 horas mas y realizar una nueva lectura.

Proceder a observar los tipos de hemólisis en el agar sangre, se puede observar la presencia de un halo transparente alrededor de la colonia donde los glóbulos rojos han sido completamente lisados. Este patrón es designado hemólisis de tipo beta y es de considerable importancia ya que la exhibe *S. pyogenes*. Un segundo grupo de microorganismos produce hemólisis parcial o hemólisis alfa observándose como un halo verdoso

alrededor de la colonia, perteneciendo a este grupo *S. pneumoniae* y *S. viridans*.



Observar el crecimiento en la placa de agar chocolate:



Observar el crecimiento en el manitol salado:

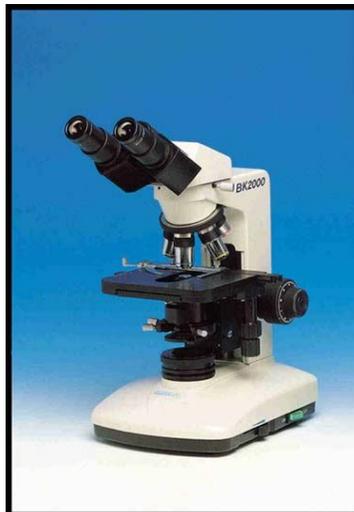
Staphylococcus aureus fermenta el manitol produciendo un cambio de coloración que pasa del rojo al amarillo.

Staphylococcus epidermidis crece en manitol, pero no lo fermenta, quedando el medio de color rojo.

Luego, proceder a la tinción Gram.

E. TINCION DE GRAM:

- Poner una gota de agua en un portaobjetos.
- Extender la muestra en el portaobjetos.
- Fijar a la llama sujetando el portaobjetos con los dedos.
- Agregar Cristal violeta por 1 minuto. Lavar el exceso de colorante.
- Añadir Lugol (mordiente), esperar 1 minuto y lavar el exceso.
- Decolorar con alcohol-acetona (20 segundos). Lavar con agua.
- Añadir Safranina (colorante de contraste), esperar 30 segundos. Lavar con agua.
- Secar al aire.
- Observar al microscopio con objetivo 40x. Observar con objetivo 100x y aceite de inmersión.
- Anotar los resultados.



Observaciones:

- En caso de observar cocos Gram positivas en parejas o cadenas, se trata de estreptococos.
- En caso de observar cocos Gram positivos en racimos; se trata de estafilococos.

I. PRUEBA DE LA CATALASA:

Se procede a realizar esta prueba para ver los resultados:

- Si es catalasa (+): se trata de estafilococos.
- Si es catalasa (-): se trata de estreptococos.

Procedimiento: Se coloca una gota de H₂O₂ al 3% sobre un portaobjetos y luego se transfiere una porción de colonia sobre el H₂O₂ realizándose una emulsión. Esta prueba también puede realizarse en un aislamiento en tubo, simplemente colocando unas gotas de H₂O₂ dentro del mismo.

Interpretación de resultados: El desprendimiento de burbujas se considera una prueba positiva.



G. IDENTIFICACIÓN DE ESTREPTOCOCOS

a. HEMÓLISIS:

En caso de observar alfa-hemólisis, podría tratarse de:

- *S. pneumoniae*.
- *S. viridans*.

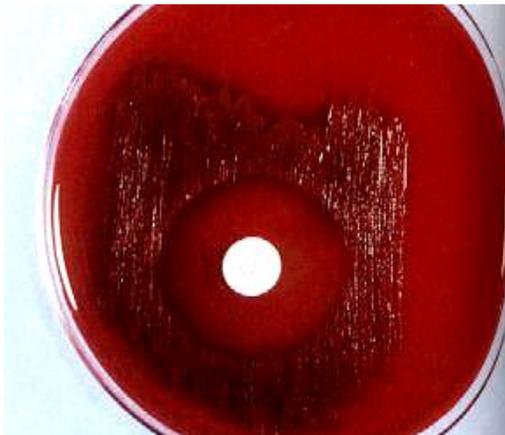
Proceder a realizar la prueba de la optoquina.

b. PRUEBA DE SENSIBILIDAD A OPTOQUINA:

Sobre la colonia en la placa de agar sangre, colocar el disco de optoquina de 5 mcg. Incubar de 18 – 24 horas a 37°C.

La aparición de un halo de inhibición de crecimiento alrededor del disco se considera prueba positiva.

- *S. pneumoniae* es sensible a optoquina.
- *S. viridans* es resistente a optoquina.



En caso de observar beta-hemólisis, podría tratarse de:

- *S. pyogenes*.
- *S. agalactiae*.

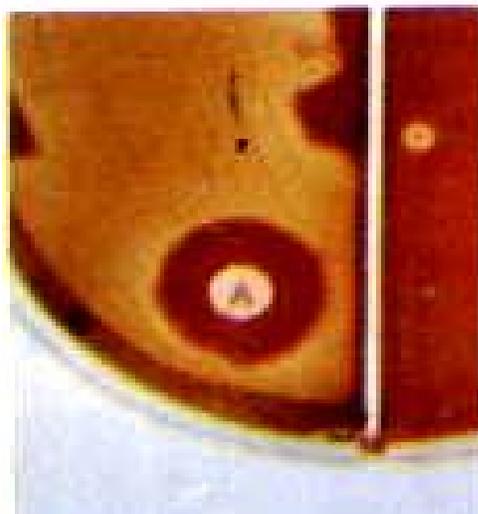


Se procede a identificarlos mediante la prueba de sensibilidad a la bacitracina. *S. pyogenes* es sensible a bacitracina, mientras que *S. agalactiae* no lo es.

c. PRUEBA DE SENSIBILIDAD A BACITRACINA

Sobre la colonia en la placa de agar sangre, colocar el disco de bacitracina de 0,04U. Incubar de 18 – 24 horas a 37°C.

La aparición de un halo de inhibición de crecimiento alrededor del disco se considera prueba positiva.



d. PRUEBA DE CAMP.-

Streptococcus pyogenes da negativa esta prueba, la cual se realiza para diferenciarlo del *Streptococcus agalactiae* que también es beta hemolítico.

Procedimiento:

Inocular una cepa de *Staphylococcus aureus* productora de beta lisina en una placa de agar sangre, trazando una sola estría siguiendo un diámetro. Inocular las bacterias a identificar trazando estrías perpendiculares a la primera, pero que no lleguen a tocarla. Incubar a 37 °C durante 18 – 24 horas.

Interpretación de resultados:

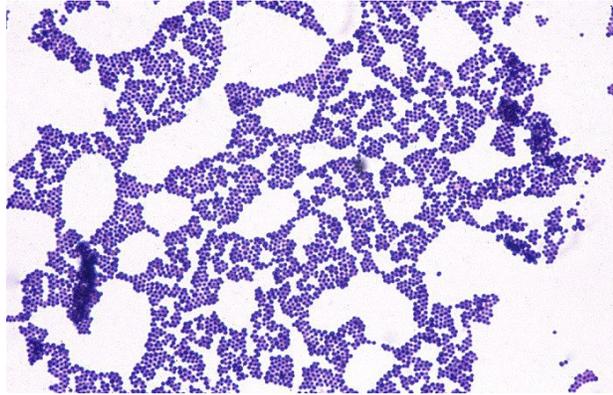
El resultado positivo se manifiesta por una zona de hemólisis intensa en la confluencia de las estrías, en forma de flecha apuntando a la estría de *S. aureus*.

Los estreptococos del grupo B (*Streptococcus agalactiae*) producen una hemolisina cuyo efecto es potenciado por la beta lisina de *S. aureus*, una fosfolipasa C que afecta a la membrana de los hematíes.

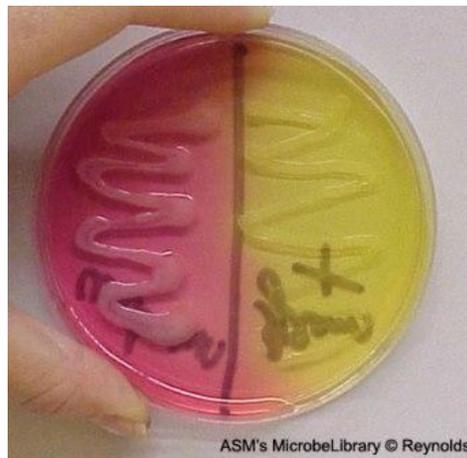


H. IDENTIFICACIÓN DE ESTAFILOCOCOS

Son cocos Gram positivo que se observan al microscopio de color morado formando grupos como racimos.



Observar el crecimiento en manitol y ver si cambia de color, observar si pasa del rojo al amarillo.



- *Staphylococcus epidermidis* no fermenta al manitol y es coagulasa (-).
- *Staphylococcus aureus* si fermenta al manitol y es coagulasa (+).

I. PRUEBA DE LA COAGULASA

Test en lámina:

Se emulsionan una o más colonias en una gota de suero fisiológico hasta formar una suspensión lechosa sobre un portaobjetos. Luego se agrega una gota de plasma citratado y se mezclan.

Interpretación de resultados: Debe realizarse dentro de los primeros diez segundos. Un test positivo se evidencia por la formación de grumos. Los test negativos deben ser confirmados por test en tubo.

Test en tubo:

Se emulsionan varias colonias en un tubo con 0,5 ml de plasma citratado. Se incuba a 35° y se chequea la formación del coagulo a las 4 horas. Si es negativo se reincuba toda la noche y se procede a su lectura a las 18 horas. La lectura a las 4 horas es fundamental porque en alguna oportunidad puede suceder que las fibrinolisinias de *S. aureus* lisen el coagulo luego de 18 horas de incubación de esta manera se produzca un test falso negativo.

Interpretación de resultados: Se observa la formación de un coagulo total o parcial si el test es positivo.



J. ANTIBIOGRAMAS.-

- **ANTIMICROBIANOS A UTILIZAR.-**

a. **SENSIDISCOS PARA *STREPTOCOCCUS*:**

Antimicrobiano	Carga del sensidisco
Penicilina	10 UI
Cefalexina	30 ug
Ceftriaxona	30 ug
Cefaclor	30 ug
Amoxicilina/ac. clavulanico	20 ug/10 ug
Cotrimoxazol	1,25 ug/23,75 ug
Eritromicina	15 ug
Azitromicina	15 ug
Gentamicina	10 ug
Clindamicina	2 ug

b. **SENSIDISCOS PARA *STAPHYLOCOCCUS*:**

Antimicrobiano	Carga del sensidisco
Oxacilina*	1 ug
Penicilina	10 UI
Cefalexina	30 ug
Ceftriaxona	30 ug
Cefaclor	30 ug
Amoxicilina/ac. clavulanico	20 ug/10 ug
Cotrimoxazol	1,25 ug/23,75 ug
Eritromicina	15 ug
Azitromicina	15 ug
Gentamicina	10 ug
Clindamicina	2 ug

*Se utilizó sensidiscos de oxacilina específicamente para *S. aureus* por recomendación del CLSI (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio), para identificar estafilococos meticilin-resistentes, ya que oxacilina predice resistencia a meticilina.

SELECCIONAR LAS COLONIAS

Esto involucra la selección de colonias apropiadas para la prueba, su suspensión en caldo y la estandarización de la suspensión.

- Primero, seleccionar varias colonias del organismo que se este analizando. Si se selecciona entre 3-5 colonias, en vez de solo una, las posibilidades de detectar resistencia son mayores.
- Utilizando un hisopo de algodón recoger de la placa solo colonias bien aisladas para evitar pruebas de cultivo mixto. Si no se dispone de colonias bien aisladas, hacer un subcultivo del organismo en una nueva placa.

• PREPARACION DEL INÓCULO

Método de suspensión directa de colonia:

Para este método las colonias no deben sobrepasar las 18-24 horas de aislamiento.

- Suspender las colonias en solución salina o caldo (Mueller Hinton o soya triptica).
- Luego ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.
- Se puede comparar la turbidez de las suspensiones poniendo los tubos frente a un papel blanco o una tarjeta de archivo con líneas negras.
- Agitar la suspensión del organismo para asegurarse que esta bien mezclada.
- Luego, sumergir un hisopo de algodón estéril en la suspensión.
- Remover el exceso de líquido del hisopo presionándolo contra la pared del tubo.

- **COMO INOCULAR LA PLACA**

- Empezando en la parte superior de la placa de agar Mueller Hinton inocular la superficie con el hisopo.
- Cubrir toda la placa frotando de ida y vuelta de un borde al otro.
- Rotar la placa aproximadamente 60 grados y repetir el procedimiento de frotado.
- Rotar otra vez 60 grados y frotar toda la placa por tercera vez. Esto garantizará que el inóculo sea distribuido homogéneamente.
- Incubar la placa dentro de los 15 minutos siguientes después de haber estandarizado el inóculo.

- **COMO APLICAR LOS DISCOS DE ANTIMICROBIANOS:**

- Colocar los discos con los agentes antimicrobianos dentro de los 15 minutos siguientes a la inoculación de la placa de agar Mueller Hinton.
- Los discos pueden ser colocados uno a uno o con un dispensador de discos.
- Típicamente, se pueden aplicar de 8 – 10 discos en una placa de 100 mm de diámetro.
- Separación: 24 mm (del centro de un sensidisco al otro más cercano)
- Presionar cada disco firmemente para asegurar el contacto completo con la superficie del agar.
- La difusión del fármaco es instantánea: no reubicar los sensidiscos después de haberlos depositado en la superficie del agar.

- **INCUBACION:**

Se procede a incubar las placas invertidas a 35 °C durante 24 horas.

Bacteria	Medio
<i>Streptococcus</i>	Agar Mueller-Hinton con 5% sangre
<i>Staphylococcus</i>	Agar Mueller-Hinton

- **COMO MEDIR LAS ZONAS DE INHIBICIÓN**

Después de retirar la placa de la incubadora:

Examinar detenidamente la placa para verificar que el crecimiento sea uniforme y confluyente de tal modo que se pueda identificar zonas sin crecimiento bacteriano.

- Sostener la placa unos pocos centímetros sobre una superficie de color negro que no refleje la luz.
- Medir redondeando al milímetro más cercano con una regla o un calibrador.
- Cuando analice estreptococos en agar Mueller-Hinton con 5% de sangre, retire la tapa y mida las zonas desde la parte superior de la placa.

INFORME DE LOS ANTIBIOGRAMAS:

- Debe contener un número limitado de antimicrobianos.
- Debe incluir solo fármacos apropiados para la localización de la infección a tratar.
- En el informe utilizar los nombres farmacéuticos (evitando los nombres comerciales)



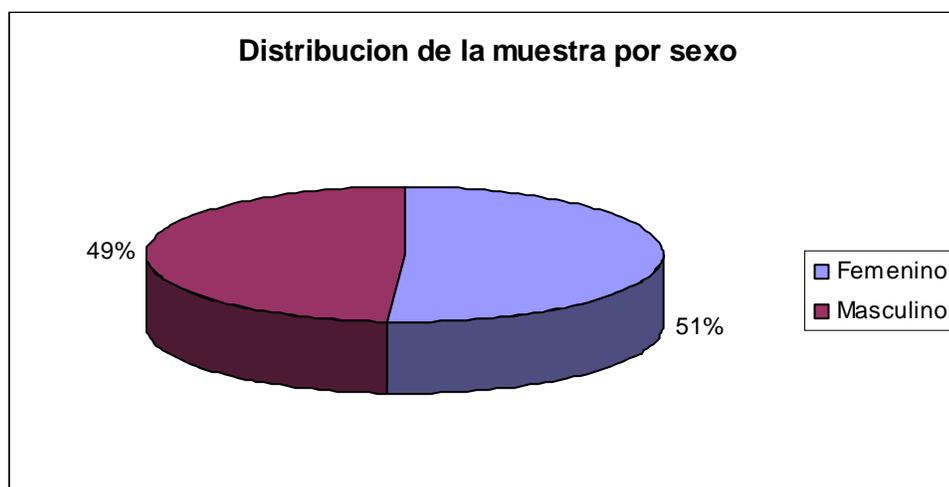
En la ilustración se observa los halos de inhibición alrededor de los discos de antimicrobianos.

CAPITULO III: RESULTADOS Y DISCUSION

RESULTADOS:

TABLA 1.- Características de la población estudiada

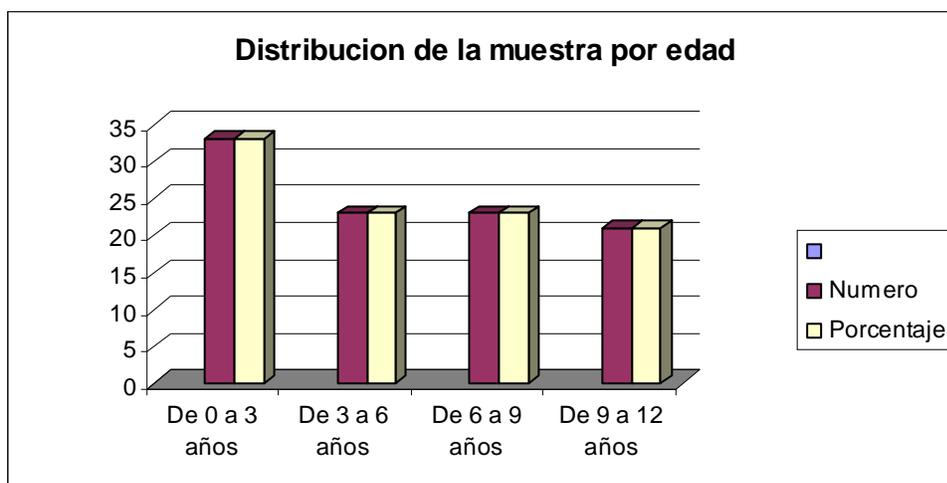
Descripción de pacientes	Número	%
Femenino	51	51
Masculino	49	49
Total	100	100



Se puede apreciar que las faringitis y amigdalitis agudas de la población en estudio están distribuidas equitativamente entre ambos sexos, por lo cual es probable que esta enfermedad se presente sin distinción de sexo, teniendo ambos sexos igual probabilidad de contraer la infección.

TABLA 2.- Edad de los pacientes

Intervalos de edad	Numero	%
De 0 a 3 años	33	33
De 3 a 6 años	23	23
De 6 a 9 años	23	23
De 9 a 12 años	21	21
TOTAL	100	100



Fuente: Elab. Propia.

Para nuestra población en estudio se observa que la distribución en la cual se presentan generalmente estas infecciones es mayor en el grupo de 0 a 3 años de edad, como se aprecia también en un estudio de José Guevara *et col*¹⁸ sobre patógenos respiratorios, en el cual el 94% de los pacientes fueron menores de 5 años.

Se observa que la distribución de la estas infecciones es equitativa para los siguientes rangos de edades: de 3 a 6 años y de 6 a 9 años, terminando

con el grupo de 9 a 12 años, en el cual la incidencia de estas enfermedades es ligeramente menor.

Se escogió estos rangos de edad porque representan intervalos de tres años cada uno.

El grupo de 0 a 3 años de edad se caracterizan por encontrarse en una etapa pre-escolar, con falta de desarrollo de madurez inmunológica, esto determinaría la mayor colonización y predisposición a infecciones del tracto respiratorio superior, y esto se ve incrementado por el hecho de que a esta edad los niños están siendo llevados a cunas, guarderías y wawawasis en donde contraerían estas infecciones.

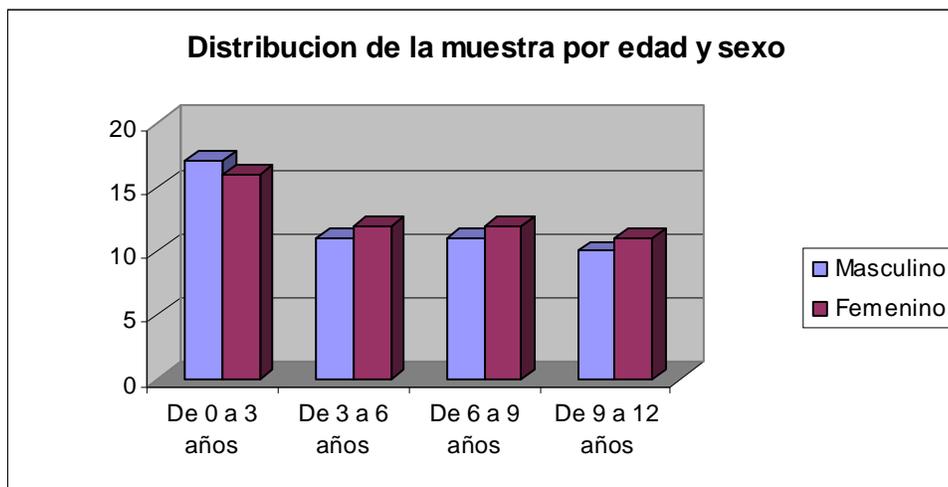
El grupo de 3 a 6 años se encuentra en etapa escolar y en pleno desarrollo de su sistema inmune, por lo cual empiezan a mejorar sus defensas, disminuyendo la cantidad de infecciones.

El grupo de 6 a 9 años ya está con un sistema inmune maduro, lo cual disminuiría la incidencia de procesos infecciosos, pero esto depende de las condiciones idiosincrásicas, socioeconómicas y antecedentes comórbidos del paciente pediátrico.

El grupo de 9 a 12 años corresponde a los pre-púberes y presentan características homogéneas en este rango de edad.

TABLA 3.- Distribución de la muestra por edad y sexo

Grupo Etareo	Sexo	Sexo	Total n	Total %
	Masculino	Femenino		
De 0 a 3 años	17	16	33	33
De 3 a 6 años	11	12	23	23
De 6 a 9 años	11	12	23	23
De 9 a 12 años	10	11	21	21
Total	49	51	100	100

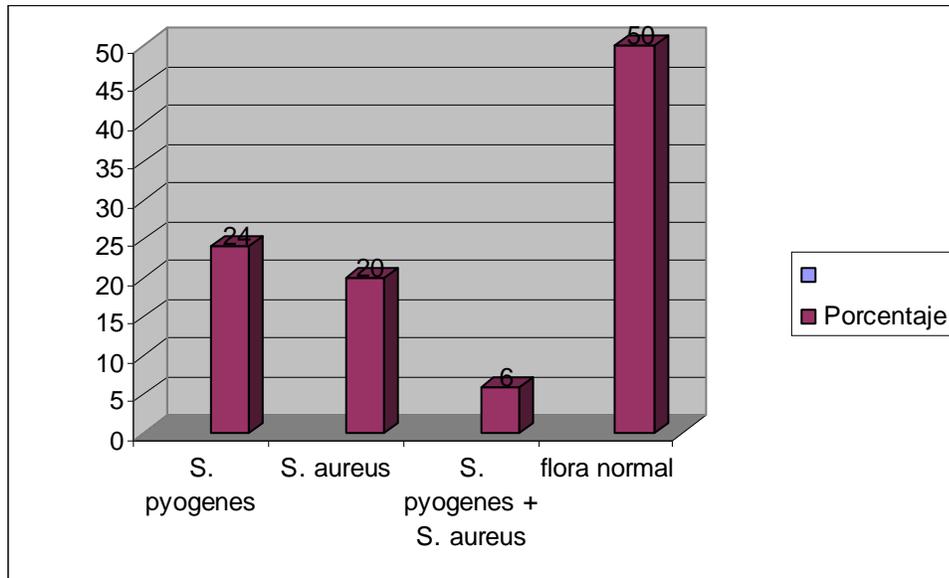


Fuente: Elab. Propia.

Para nuestra población en estudio se observa que la distribución de la enfermedad es equitativa en ambos sexos; siendo para el grupo de 0 a 3 años ligeramente mayor la incidencia en varones; mientras que para los demás grupos de edades la incidencia de faringitis y faringoamigdalitis agudas es ligeramente mayor en las mujeres.

TABLA 4.- Microorganismos Gram positivos encontrados.

Agente	Porcentaje
<i>Streptococcus pyogenes</i>	24 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	20 %
<i>S. pyogenes</i> + <i>S. aureus</i>	6 %
Flora normal	50 %



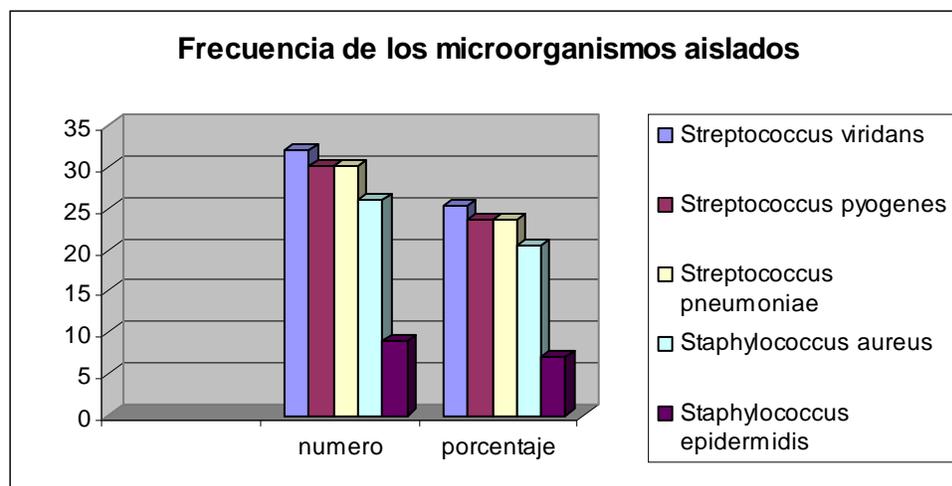
Fuente : Elab. Propia.

En la población estudiada se encontró flora normal en un 50% de los casos, por lo que podemos decir que es muy probable que estas faringitis y faringoamigdalitis sean de origen viral.

Mientras que tenemos un 24% de estas infecciones producidas por *S. pyogenes*, un 20% producidas por *S. aureus* y 6% de infecciones mixtas.

TABLA 5.- Frecuencia de microorganismos aislados.

Microorganismo	n	%
<i>Streptococcus viridans</i>	32	25.20
<i>Streptococcus pyogenes</i>	30	23.62
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	30	23.62
<i>Staphylococcus aureus</i>	26	20.47
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9	7.09
TOTAL	127	100



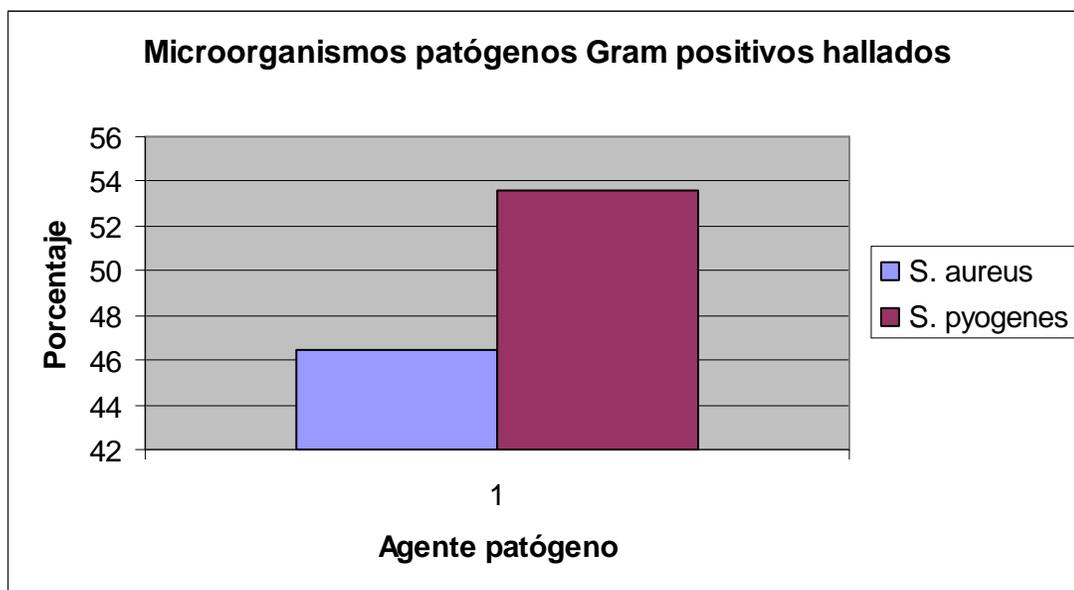
Fuente: Elab. Propia.

Para nuestra población en estudio, se observa que los microorganismos mas frecuentemente hallados en las muestras de exudado faringeo pertenecen al genero de los estreptococos, tanto patógenos (*S. pyogenes*) como de flora normal (*S. viridans* y *S. pneumoniae*), seguidos por estafilocos patógenos como *S. aureus* y finalmente *S. epidermidis* (que es parte de la flora normal).

Hacemos referencia al estudio sobre Prevalencia de *S. pyogenes* en Escolares, realizado por Manuel Figueroa *et col*¹³ que encontró que un 17.2% de niños presentaron este agente patógeno en cultivos de secrecion faringea.

TABLA 6.- Microorganismos patógenos Gram positivos encontrados.

Agente patógeno	n	%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	30	53.57
<i>Staphylococcus aureus</i>	26	46.43
TOTAL	56	100



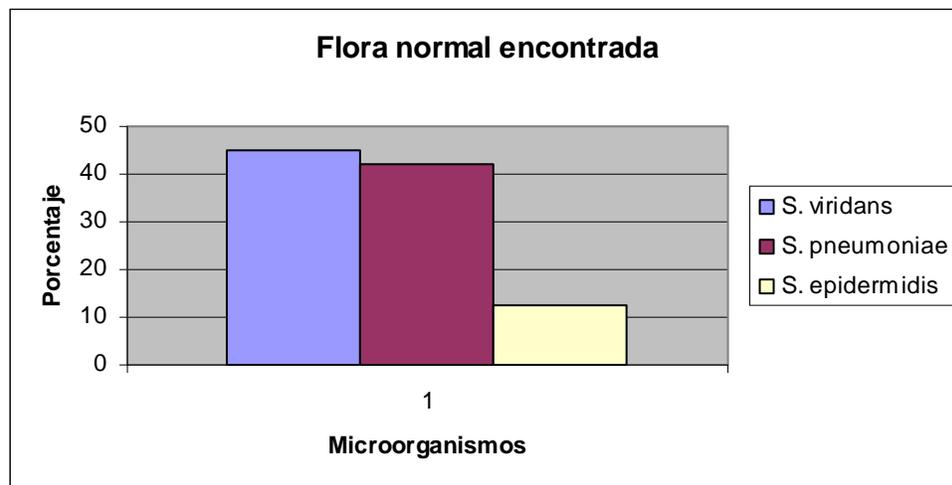
Fuente: Elab. Propia.

Para nuestra población en estudio se encontró que del 100% de patógenos Gram positivos, el 53.57% corresponde a *S. pyogenes* y el 46.43% a *S. aureus*, siendo mas frecuente *S. pyogenes* como causante de las faringitis y faringoamigdalitis agudas producidas por bacterias.

En un estudio sobre Faringoamigdalitis Aguda realizado por Fernanda Cofré ⁶, la mayoría de casos fueron de origen viral, pero de los casos de origen bacteriano, *S. pyogenes* fue el principal agente etiológico de la enfermedad.

TABLA 7.- Flora normal encontrada.

Microorganismo	n	%
<i>Streptococcus viridans</i>	32	45.07
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	30	42.25
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9	12.68
TOTAL	71	100



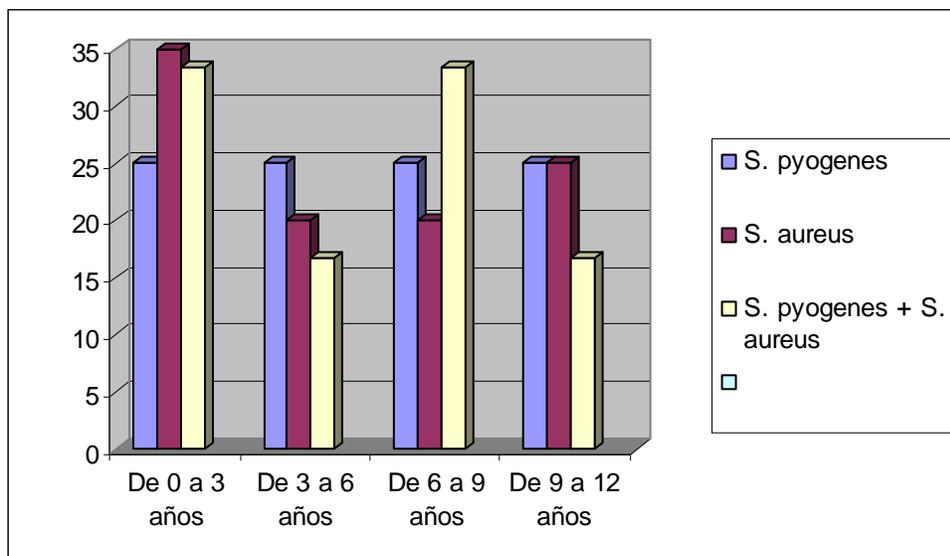
Fuente: Elab. Propia.

Para nuestra población en estudio, se observa que en mayor medida el microorganismo no patógeno hallado en las muestras de exudado faríngeo fue el *S. viridans*, seguido por el *S. pneumoniae*, y en muchísima menor proporción el *S. epidermidis*.

Esto podría explicarse al sugerir que en estos pacientes la etiología de las faringitis y faringoamigdalitis agudas es de origen viral, ver Bailey & Scott³ y Martín Pinzon Navarro²⁸

TABLA 8.- Variabilidad etiológica según edad.

Grupo etáreo	S. pyogenes		S. aureus		S. aureus + S. pyogenes		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
De 0 a 3 años	6	25	7	35	2	33.33	15	30
De 3 a 6 años	6	25	4	20	1	16.67	11	22
De 6 a 9 años	6	25	4	20	2	33.33	12	24
De 9 a 12 años	6	25	5	25	1	16.67	12	24
TOTAL	24	100	20	100	6	100	50	100



Fuente: Elab. Propia.

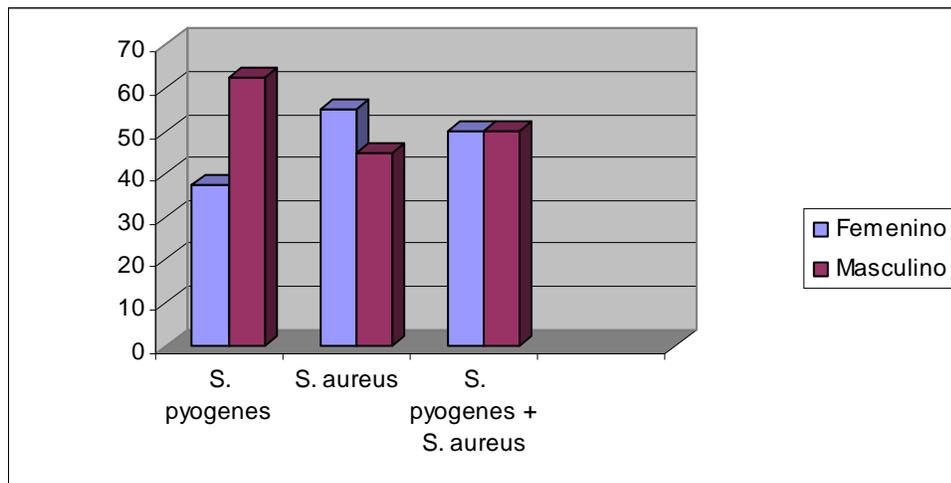
En nuestra población en estudio se observa que el rango de edades comprendida entre los 0 y 3 años presenta mayor presencia de *S. aureus* en las muestras de exudado faríngeo que en otros grupos de edad. Esto se explicaría por que estos niños aún no tienen desarrollado completamente su sistema inmune y además podrían estar asistiendo a cunas o guarderías, sitios en los cuales tendrían mayor contacto con otros niños y por ende contagiándose más con estos agentes infecciosos.

En cuanto a *S. pyogenes*, este se encuentra distribuido equitativamente en todos los rangos de edad comprendidos entre los 0 y los 12 años.

Las infecciones mixtas se han presentado más en los rangos de edad comprendidos entre los 0 y 3 años y los de 6 a 9 años. En este caso no hay datos representativos, porque sólo hubo 6 casos de estas infecciones por ambos patógenos (*S. aureus* + *S. pyogenes*).

TABLA 9.- Variabilidad etiológica según sexo.

	<i>S. pyogenes</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S. pyogenes</i> + <i>S. aureus</i>		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Femenino	9	37.5	11	55	3	50	23	46
Masculino	15	62.5	9	45	3	50	27	54
Total	24	100	20	100	6	100	50	100



Fuente: Elab. Propia.

En la población estudiada, se observa que la presencia de *S. pyogenes* como único microorganismo patógeno presente es más frecuente en niños varones.

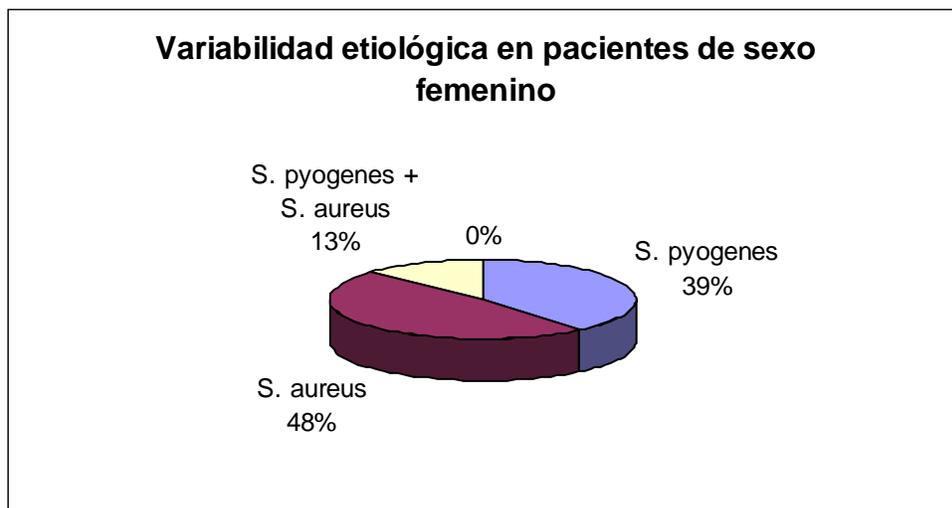
S. aureus, como único patógeno presente es mas frecuente en niñas mujeres, pero no es estadísticamente significativo.

Por último, se observa que la presencia de infecciones mixtas está dada en igual proporción para ambos sexos.

Hacemos referencia al estudio de Manuel Figueroa ¹³, el cual mostró que la frecuencia de la prevalencia del estreptococo del grupo A (*S. pyogenes*) era mayor en niños (22.5%) que en niñas (12.7%).

TABLA 10.-Variabilidad etiológica en pacientes de sexo femenino.

	<i>S. pyogenes</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S. pyogenes</i> + <i>S. aureus</i>		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Femenino	9	39.13	11	47.83	3	13.04	23	100

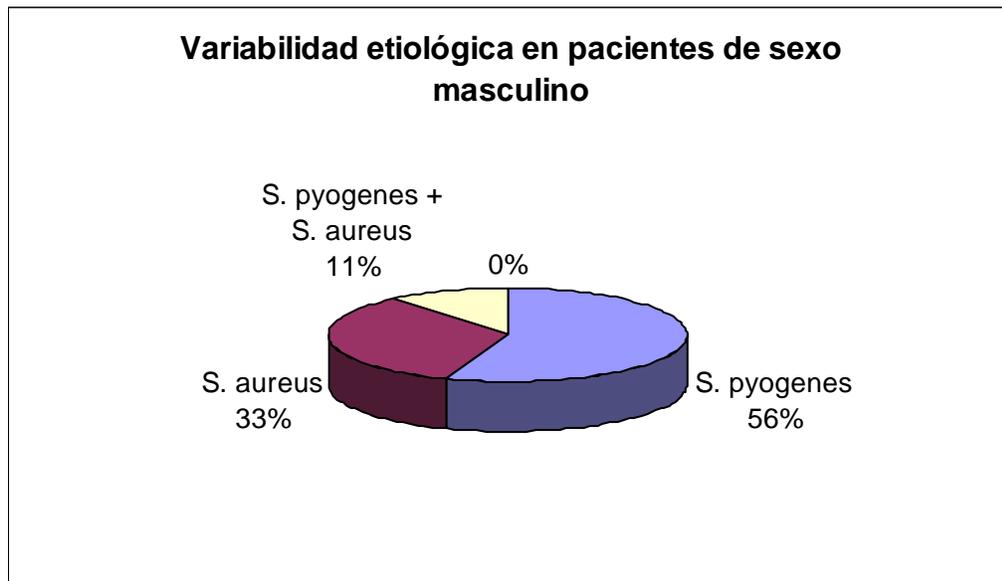


Se observa que el agente etiológico mas frecuente de las faringitis y faringoamigdalitis agudas es *S. aureus* (48% aprox.) para el caso de las pacientes pediátricas de sexo femenino de nuestra población en estudio.

Luego continúan las infecciones por *S. pyogenes* (39% aprox.); y finalmente las infecciones mixtas por ambos agentes patógenos son del orden de 13%.

TABLA 11.-Variabilidad etiológica en pacientes de sexo masculino.

	<i>S. pyogenes</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S. pyogenes</i> + <i>S. aureus</i>		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Masculino	15	55.56	9	33.33	3	11.11	27	100



Aquí se observa que el agente etiológico mas frecuente de las faringitis y faringoamigdalitis agudas es el *S. pyogenes* (56 % aprox.), para el caso de los niños varones de nuestra población en estudio.

Luego continúan las infecciones faringoamigdalares por *S. aureus* (33% aprox.) y finalmente siguen las infecciones mixtas (11% aprox.).

**TABLA 12.- Sensibilidad y resistencia de *S. pyogenes*
frente a los fármacos antimicrobianos**

Antibiótico	S*		I*		R*	
	n	%	n	%	n	%
Penicilina	16	53.33	----	----	14	46.67
Cefalexina	14	46.67	3	10.00	13	43.33
Cefaclor	21	70.00	4	13.33	5	16.67
Ceftriaxona	22	73.33	----	----	8	26.67
Amoxicilina/clavulanico	28	93.33	2	6.67	----	----
Azitromicina	15	50.00	11	36.67	4	13.33
Eritromicina	14	46.67	11	36.67	5	16.66
Cotrimoxazol	27	90.00	3	10.00	----	----
Gentamicina	26	86.66	2	6.67	2	6.67
Clindamicina	16	53.33	5	16.67	9	30.00

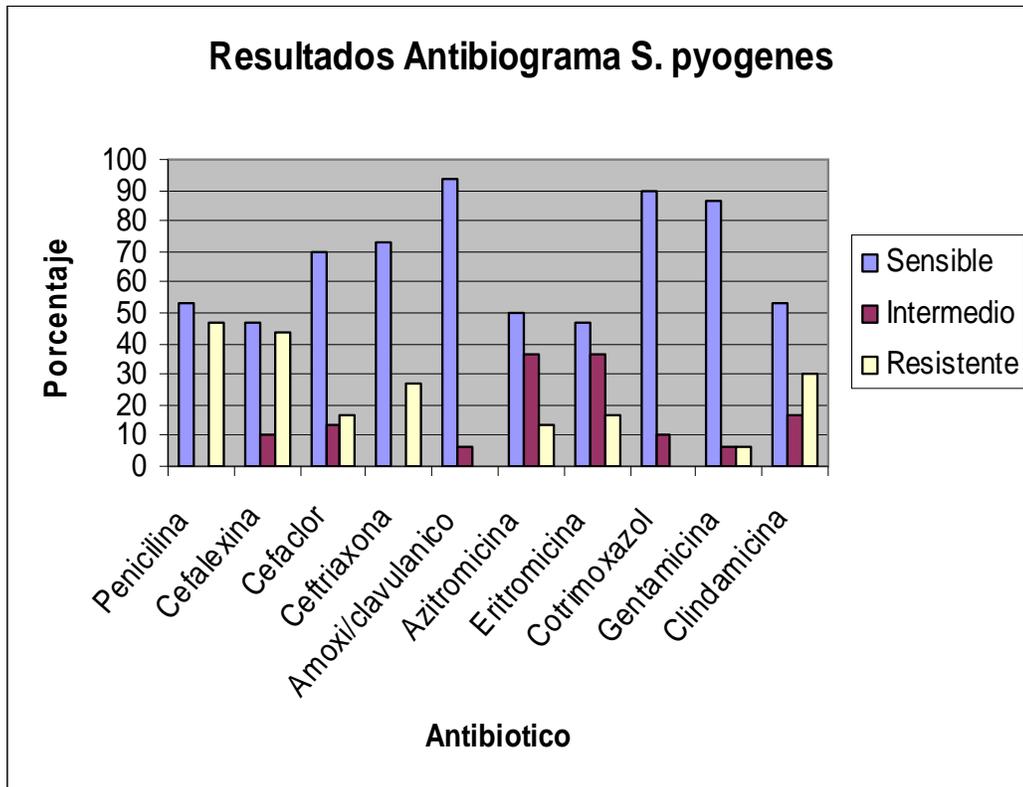
Leyenda:

S* = Sensibilidad

I* = Sensibilidad Intermedia

R* = Resistencia

Estos resultados se hallaron después de medir las zonas de inhibición (en mm) en el agar Mueller Hinton con 5% de sangre, los cuales fueron comparados con las tablas proporcionadas por el Instituto Nacional de Salud para la interpretación de halos de inhibición, la cual se encuentra en Anexos.



Fuente: Elab. Propia.

En el gráfico se observa que los antibióticos más eficaces para tratar infecciones con *S. pyogenes* son los siguientes:

- Amoxicilina/clavulanico : 93.33% de sensibilidad
- Cotrimoxazol (trimetoprin/sulfametoxazol) : 90% de sensibilidad.
- Gentamicina: 86.66% de sensibilidad.
- Ceftriaxona: 73.33% de sensibilidad.
- Cefaclor: 70% de sensibilidad.

Los antibióticos a los cuales *S. pyogenes* presenta mayor resistencia son:

- Penicilina: 46.67% de resistencia.
- Cefalexina: 43.33% de resistencia.

TABLA 13.- Sensibilidad y resistencia de *S. aureus* frente a los fármacos antimicrobianos.

Antibiótico	S*		I*		R*	
	n	%	n	%	n	%
Penicilina	2	7.69	----	----	24	92.31
Cefalexina	16	61.54	5	19.23	5	19.23
Cefaclor	18	69.23	3	11.54	5	19.23
Ceftriaxona	16	61.54	9	34.61	1	3.85
Amoxicilina/clavulanico	18	69.23	----	-----	8	30.77
Azitromicina	10	38.46	13	50.00	3	11.54
Eritromicina	11	42.31	11	42.31	4	15.38
Cotrimoxazol	25	96.15	1	3.85	---	-----
Gentamicina	24	92.3	1	3.85	1	3.85
Clindamicina	12	46.15	8	30.77	6	23.08
Oxacilina	21	80.77	2	7.69	3	11.54

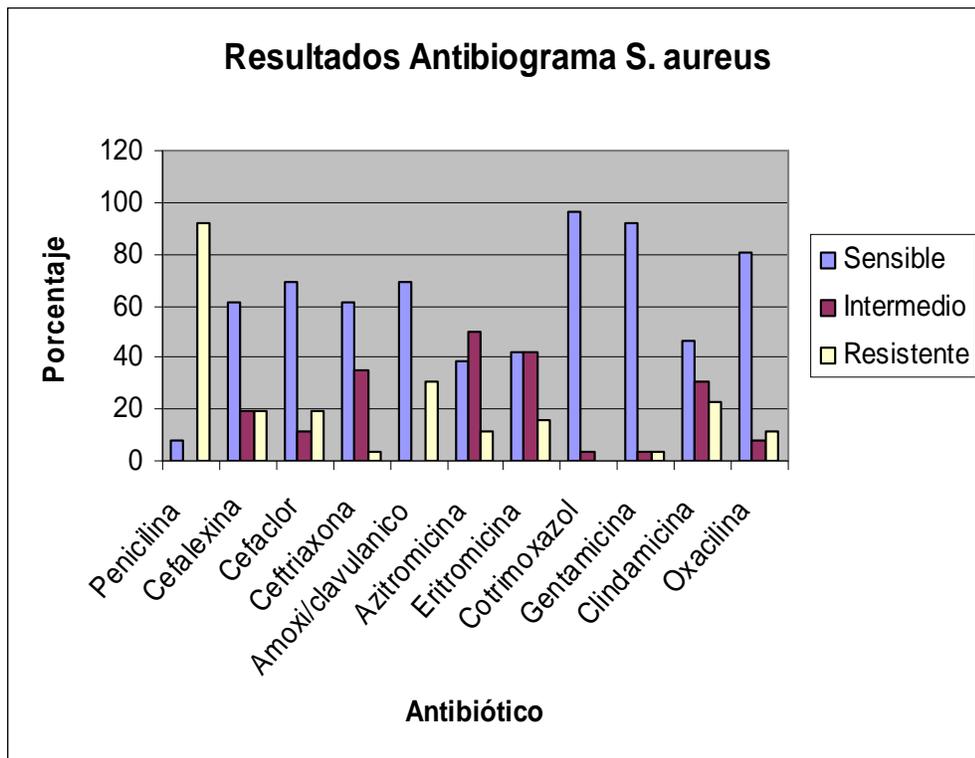
Leyenda:

S* = Sensibilidad

I* = Sensibilidad intermedia

R* = Resistencia

Estos resultados se hallaron después de medir las zonas de inhibición (en mm) en el agar Mueller Hinton, los cuales fueron comparados con las tablas proporcionadas por el Instituto Nacional de Salud para la interpretación de halos de inhibición, la cual se encuentra en Anexos.



Fuente: Elab. Propia.

En el gráfico podemos apreciar que los siguientes antibióticos son más eficaces para tratar infecciones por *S. aureus*:

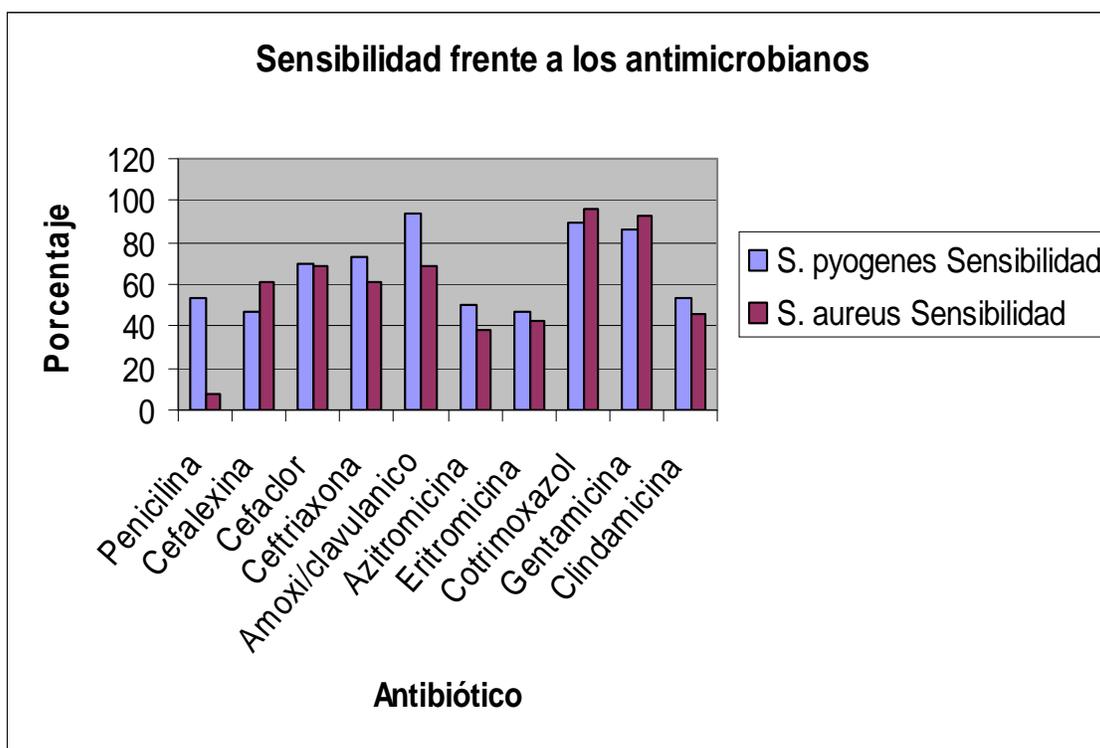
- Cotrimoxazol: 96.15% de sensibilidad.
- Gentamicina: 92.3% de sensibilidad.
- Oxacilina: 80.77% de sensibilidad.

El antibiótico más ineficaz contra *S. aureus* es:

- Penicilina: 92.31% de resistencia.

TABLA 14.- Sensibilidad de *S. pyogenes* vs. Sensibilidad de *S. aureus* frente a los antimicrobianos.

Antibiótico	<i>S. pyogenes</i> %	<i>S. aureus</i> %
Penicilina	53.33	7.69
Cefalexina	46.67	61.54
Cefaclor	70.00	69.23
Ceftriaxona	73.33	61.54
Amoxicilina/clavulanico	93.33	69.23
Azitromicina	50.00	38.46
Eritromicina	46.67	42.31
Cotrimoxazol	90.00	96.15
Gentamicina	86.66	92.3
Clindamicina	53.33	46.15



En el cuadro anterior se observa que tanto cotrimoxazol (trimetoprin/sulfametoxazol) como gentamicina tienen una buena eficacia para tratar infecciones producidas por *S. pyogenes* como por *S. aureus*.

En cuanto a amoxicilina/clavulánico, se observa que es más eficaz contra *S. pyogenes* que contra *S. aureus*.

Los fármacos poco eficaces contra ambos microorganismos son azitromicina y eritromicina.

La penicilina es el antibiótico más ineficaz contra *S. aureus*, porque presenta una muy alta resistencia.

DISCUSIÓN.-

La resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno evolutivo natural que puede verse acelerado por diferentes factores.

Uno de los factores más relevantes es el consumo excesivo e inadecuado de antibióticos, ya que favorece la selección y difusión de cepas resistentes que provocan un aumento de fracasos terapéuticos.

Si consideramos que en muchas ocasiones la prescripción antibiótica debe realizarse antes de conocer los resultados microbiológicos, el tratamiento empírico debe apoyarse en la etiología más probable de la infección y en el mapa de resistencias de los patógenos más frecuentes en cada área geográfica.²⁹

En cuanto a la utilización de gentamicina para las pruebas de susceptibilidad, podemos decir que a pesar de que este antibiótico no es reportado en forma rutinaria porque los aminoglucósidos no se consideran agentes de primera línea contra estas infecciones; ellos se utilizan a veces en combinación con otro agente para tratar infecciones estafilocócicas severas.⁸

CAPITULO IV: CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

CONCLUSIONES

- 1) Se determinó que el 50% de las faringitis y faringoamigdalitis agudas en niños de nuestra población en estudio son de origen bacteriano patógeno.
- 2) Se identificó los agentes patógenos Gram positivos causantes de estas infecciones encontrándose que fueron *Streptococcus pyogenes* (24%) y *Staphylococcus aureus* (20%) y simultáneamente ambos patógenos en 6% de los casos.
- 3) Se determinó la sensibilidad de *S. pyogenes* y *S. aureus* frente a los fármacos antimicrobianos encontrando lo siguiente:
 - Se encontró que el único antibiótico que no presentó ninguna resistencia por parte de *S. pyogenes* y *S. aureus* fue cotrimoxazol (trimetoprim/sulfametoxazol).
 - Se demostró que *S. aureus* posee una muy alta resistencia a la penicilina (92.31%).
 - *S. pyogenes* no presenta ninguna resistencia frente a la asociación de amoxicilina con ácido clavulánico.
 - *S. aureus* exhibe el mismo porcentaje de resistencia (19.23%) tanto para cefalexina como para cefaclor.
 - Gentamicina ha demostrado eficacia tanto frente a *S. pyogenes* como frente a *S. aureus*.

SUGERENCIAS

- Promover el cultivo de secreción faríngea en pacientes con faringitis y faringoamigdalitis aguda antes de iniciar el tratamiento con un antimicrobiano.
- Promover el uso de antimicrobianos de espectro reducido que sean eficaces contra el germen implicado, evitando el uso de antimicrobianos de amplio espectro.
- Usar antimicrobianos bactericidas. Esta recomendación es especialmente necesaria en los casos de inmunosuprimidos.
- Para nuestra población en estudio, sería recomendable utilizar cotrimoxazol (trimetoprin/sulfametoxazol), en los casos con diagnóstico presuntivo de faringitis y faringoamigdalitis aguda, pues este antimicrobiano ha demostrado tener una alta eficacia para combatir tanto a *S. pyogenes* como a *S. aureus*, que han resultado ser los agentes etiológicos Gram positivos más frecuentemente encontrados en estas infecciones; principalmente para prevenir las complicaciones no supurativas de la infección por *S. pyogenes*, como son la fiebre reumática y la glomerulonefritis difusa aguda.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Aracil Belén y Alos Juan Ignacio. *Streptococcus pyogenes* resistente a los macrolidos. Serv. Microbiología. Hosp. Mostoles. Madrid.
- 2.- Braun Stephanie Estudio microbiológico del tracto respiratorio superior. 2003. Rev Chil Infect; 20(3): S 193-198.
- 3.- Bailey & Scott. Diagnostico Microbiológico. Edit. Panamericana 2004.
- 4.- Camponovo Rossanna. Problemas de resistencia en *Streptococcus pyogenes*. 2002. Rev. Chil Infect, 19 (Supl. 2): S 107-110.
- 5.- Carmona Martín. Prevención de la resistencia bacteriana a antimicrobianos. Aspectos farmacológicos. 2003. Rev. Soc. Ven. Microbiol. Vol 23, N°1. Caracas.
- 6.- Fernanda Cofre, Jaime Rodríguez et al. Faringoamigdalitis aguda. 2005. Rev. Ped. Elec., Vol. 2, N°3.
- 7.- Cona Erna. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. 2002. Rev Chil Infect; 19(Supl. 2): S 77-81
- 8.- Coyle Marie. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. Departments of Laboratory Medicine and Microbiology. University of Washington.
- 9.-Cristal Juliet, Evaluation of *Staphylococcus* spp in vitro Susceptibility. 2002. Rev Chil Infect; 19 (Supl. 2): S 116-118.
- 10.- Delgado Iribarren. Laboratorio de Microbiología. 2004.
- 11.- Diez Oscar, Batista Ninive et col. Diagnostico microbiológico de las infecciones del tracto respiratorio superior. 2007. Enfer Infecc Microbiol Clin; 25(6): 387-93.
- 12.- Dirección Gral. Salud Arequipa Análisis de la situación de las infecciones respiratorias agudas en Arequipa. Julio 2004.
- 13.- Figueroa Manuel, Irma de Becerra, Dawlo Castillo. Prevalencia del Estreptococo de Grupo A, en Escolares de Tegucigalpa. Rev. Med. Hondur. Vol. 44-1976.

- 14.- García de Lomas J, López Cerezo, Gimeno Cardona et al. Sensibilidad de los patógenos respiratorios en la comunidad en España: resultados del estudio SAUCE. 2002. Anales Españoles de Pediatría. Vol. 56, Suplemento 1.
- 15.- García Arenzana José Ma. Infección bacteriana de las vías respiratorias en pediatría, resistencias antibióticas y uso racional de antibióticos en el año 2002. Serv Microbiol Hosp. Donostia. San Sebastián.
- 16.- Gil D de M. Mónica. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. 2000. Rev Chil Infect, 17 (2): 145-152.
- 17.- González.Patricia Antibiograma por método de difusión: Selección de antimicrobianos. 2002. Rev Chil Infect; 19(Supl. 2): S 82-84.
- 18.- Guevara José, Rosaluz Arostegui, Wini Agurto et al. Susceptibilidad a antimicrobianos de patógenos respiratorios en niños provenientes de la comunidad. Anales Fac Med UNMSM 2004 Vol. 65, N°1 Págs. 14-18.
- 19.- Instituto Nacional de Salud. Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión. 2001.
- 20.- Jawestz Ernest, Melnick Joseph, Adelberg Edward. Edit. Manual Moderno.2002.
- 21.- Leños Blanca, Miranda Maria, Solórzano Fortino, Ortiz Laura, Guiscafrec Héctor. Prevalencia de colonización por *Moraxella catarrhalis* en portadores asintomático menores de seis años.2001. Salud Pública de México. Vol. 43, N°1.
- 22.- Mims, Playfair, Roitt, Wakelin, Williams. Microbiología Médica. Mosby/Doyma Libros. 2003.
- 23.- Ochoa Sangrador C. et col. Protocolo diagnóstico-terapéutico de la faringoamigdalitis aguda en la infancia. 1999. Vol. Pediatr; 39: 66-71.
- 24.-Ochoa Sangrador C., Vilela M.et col. Adecuación del tratamiento de la faringoamigdalitis aguda a la evidencia científica. 2003. An Pediatr (Barc), 59 (1): 31-40.
- 25.- Palavecino Elizabeth. Recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards para el estudio de susceptibilidad en microorganismos fastidiosos y en microorganismos que presentan mecanismos de resistencia difíciles de detectar. 2002. Rev Chil Infect, 19 (Supl. 2): S 129-134.

- 26.-. Peñalba; Riaño et col. Incidencia de faringitis estreptocócica.2007. Anales Pediatría (Barc), 67(3): 220-4.
- 27.- Piedrola; Montiel; López; Monje et col. Situación actual de las resistencias a antibióticos en infecciones amigdalares. 2006. Acta Otorrinolaringol. España. 57: 171-175.
- 28.- Pinzon Navarro Martín, Peñaranda Augusto. Faringoamigdalitis aguda. Sección Otorrinolaringología. Fundación Santa Fe de Bogota.
- 29.- Salas Martín; Gil-Setas, Mazon A. Etiología y sensibilidad antibiótica de las infecciones extrahospitalarias más frecuentes. 2006. An. Sist. Sanit. Navar., Vol.29, N°1, enero-abril.
- 30.- Trucco Olivia. Estudio de susceptibilidad in vitro en *Haemophilus influenzae*. 2002. Rev Chil Infect; 19 (Supl. 2): S 125-128.

ANEXOS

ANEXO 1

- **COLORACIÓN DE GRAM**

Fue descubierta por Hans Christian Gram en 1884 y es la más empleada en bacteriología, pues permite diferenciar a las bacterias, incluso, cuando tienen igual forma o tamaño.

La pared celular es responsable de lo que le sucede al colorante empleado en esta tinción. La propiedad de teñirse o no de violeta oscuro (Gram positivas o Gram negativas), es un criterio de clasificación importante correlacionable con otras propiedades bacterianas, ya que unos pocos organismos son Gram-variables.

Tanto las Gram positivas como las Gram negativas captan la misma cantidad de yodo y cristal violeta formando un complejo. Este sin embargo, es atrapado dentro de la célula Gram positiva por la deshidratación y la reducción del tamaño de los poros de la pared, resultado del proceso de lavado con el solvente (alcohol-acetona). En las Gram negativas en cambio, la fina capa de peptidoglicano no impide la extracción del complejo por el solvente.

Se debe tener en cuenta que si se utilizan cultivos bacterianos muy viejos, las bacterias Gram positivas podrían observarse como Gram negativas debido a la acidificación paulatina del cultivo, lo cual disminuye la afinidad del tinte.

Reactivos Gram

Cristal violeta

Cristal violeta -----	2 g
Alcohol etílico 95%-----	20 ml
Oxalato de amônio -----	0.8 g
Agua destilada-----	100 ml

Solución de Ioduro (Lugol)

Ioduro de Potasio -----	2 g
Cristales de Iodine -----	1 g
Agua destilada -----	100 ml

Decolorante (Alcohol – acetona)

Acetona -----	50 ml
Alcohol etílico 95% -----	50 ml

Colorante de contraste (Safranina)

Solución A

Safranina O -----	2.5 g
Alcohol etílico 95% -----	100 ml
Solución A -----	10 ml
Agua destilada -----	90 ml

ANEXO 2

CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS:

El cultivo y la identificación de los patógenos específicos a partir de los materiales recogidos de los pacientes en los que se sospecha que tengan una infección es todavía la mejor herramienta diagnóstica disponible, aunque no es la más rápida.

El cultivo es todavía el patrón de oro (gold standard) y permanecerá como herramienta importante de diagnóstico.

Permite identificar el microorganismo aislado y realizar estudios de sensibilidad a los antimicrobianos.

Como regla general, la elección de métodos y medios de cultivo se ajusta a la naturaleza y origen de la muestra y a los interrogantes que se pretende responder.

Por un lado tenemos medios simples que permiten el desarrollo de microorganismos con una gran capacidad metabólica, que de pocos nutrientes son capaces de extraer todo lo necesario para multiplicarse.

Por el contrario, existen medios complejos que agregan diferentes sustancias necesarias a algunos microorganismos.

También los medios de cultivo pueden definirse como determinados, aquellos que tienen su composición químicamente definida, o aquellos no bien definidos.

Para el cultivo pueden utilizarse medios de cultivo diferenciales que ponen en evidencia alguna característica metabólica de algún grupo de bacterias.

También pueden utilizarse medios selectivos que inhiban el desarrollo de algunos microorganismos, permitiendo el desarrollo particular de otros.

Por último, los medios de enriquecimiento son medios líquidos que facilitan el desarrollo de algunos microorganismos inhibiendo flora asociada y modificando la relación cuantitativa entre estos. El aislamiento posterior en medios sólidos permite la recuperación de estas bacterias.

El cultivo faringeo es el estándar de oro para el diagnóstico microbiológico, con una sensibilidad de 90 – 95%.

- **PREPARACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.-**

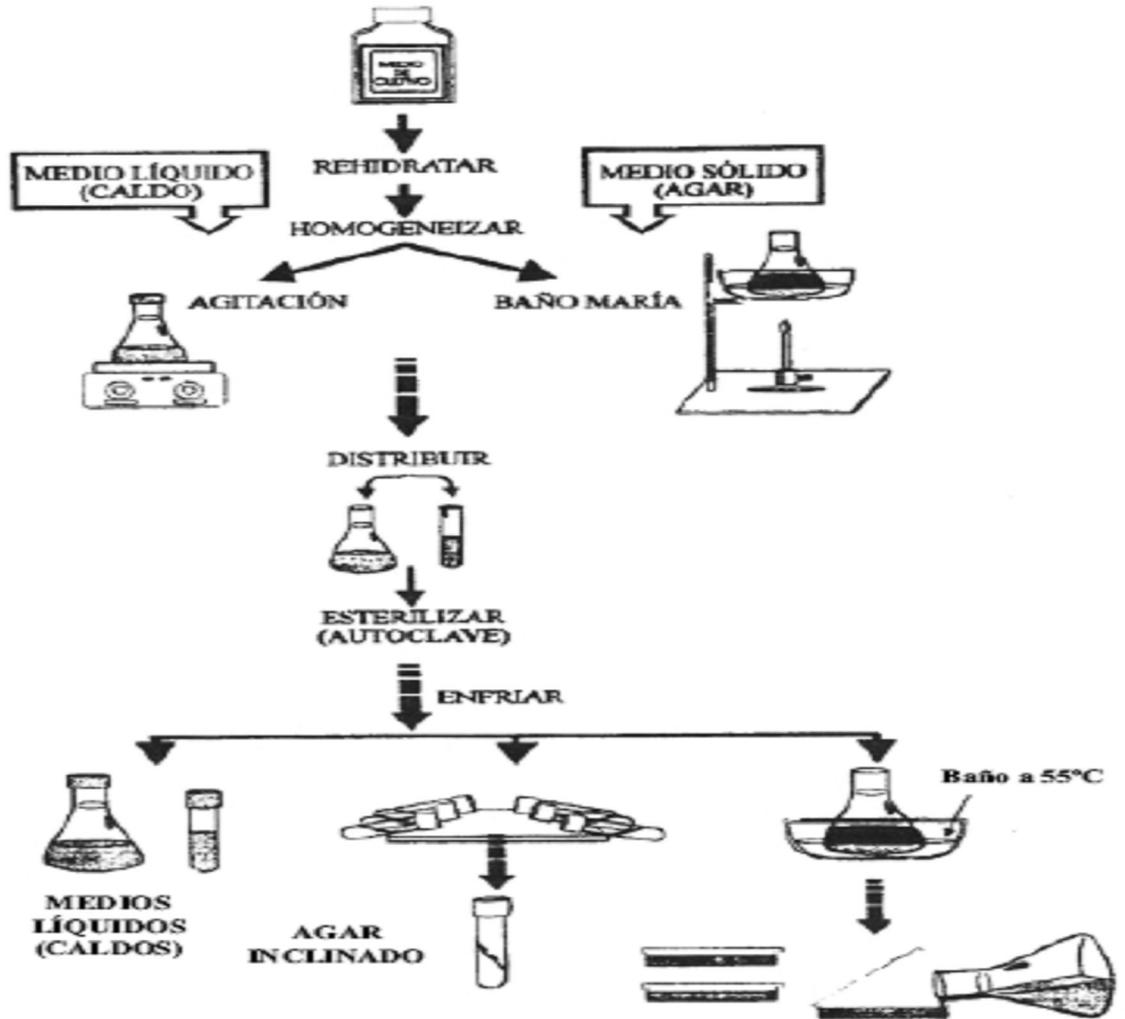
Es una simple manipulación, que pone especial atención en la calidad del medio y en la esterilidad del proceso, por lo cual es importante seguir las siguientes recomendaciones:

- El material a utilizar debe estar en perfectas condiciones de limpieza.
- Los aparatos a utilizar, como balanzas y autoclaves, deben estar perfectamente calibrados.
- El agua debe ser destilada o desionizada y no debe contener cloro, cobre, plomo ni detergentes.
- Debe ponerse mucha atención en el tiempo de esterilización.

- **MODELO ESTANDAR DE PREPARACION.-**

- Se disuelve la cantidad del medio en el volumen de agua destilada o desionizada. La disolución se hace calentando y agitando al mismo tiempo, cuando se trata de un medio sólido o semisólido, hasta que se disuelva por completo. Si el medio de cultivo fuera un caldo, con una fuerte agitación sería suficiente.
- Se esterilizará en autoclave el medio de cultivo ya disuelto. El tiempo va en función del volumen, por ejemplo, un litro de medio necesita 15 minutos de autoclave a 121 °C y a una presión de 1 Kg./cm².
- Los medios se trasladan a una zona estéril, para irlos enfriando lentamente y añadirles, si procede, los suplementos, a una temperatura que oscila entre los 45° y 50°C.
- Se dosifica el medio de cultivo en el tipo de envase que se vaya a requerir en condiciones totalmente asépticas.

Flujograma de Preparación de Medios de Cultivo



- **MEDIO LÍQUIDO DE TIOGLICOLATO**

Permite el desarrollo de una amplia variedad de microorganismos, incluidos los nutricionalmente exigentes y se observa que las bacterias estrictamente aerobias, crecen en la parte superior, mientras que las anaerobias facultativas o anaerobias estrictas crecen en las profundidades del medio. La presencia de grupos -SH- (aportados por cisteína, tioglicolato, glutatión, etc.) en medios de cultivos con digestos proteicos facilita el aislamiento de diversas bacterias anaerobias. La presencia de una baja cantidad de agar, retarda la dispersión de CO₂ y O₂.

Fórmula (en gramos por litro)

Peptona de caseína	-----	15
Extracto de levadura	-----	5
Glucosa	-----	5.5
Cloruro de sodio	-----	2.5
Tioglicolato de sodio	-----	0.5
Agar	-----	0.75
L-cistina	-----	0.5

Preparación:

- Suspender 29.5 gramos del medio deshidratado en un litro de agua destilada.
- Calentar y agitar con frecuencia hasta disolución total.
- Distribuir en recipientes adecuados y esterilizar a 121°C durante 15 minutos.
- Enfriar y guardar a temperatura ambiente protegido de la luz.
- Se recomienda calentar el medio a ebullición y enfriarlo a temperatura ambiente antes de utilizarlo.

- **AGAR SANGRE.-**

Es un medio de aislamiento especialmente diseñado para facilitar el crecimiento de microorganismos exigentes, bacterias Gram positivas y todas las especies encontradas en muestras de origen clínico.

Contiene una mezcla de peptonas particularmente adaptada al cultivo de microorganismos exigentes. La presencia de sangre permite la determinación de la hemólisis, criterio básico en la orientación de la identificación bacteriana.

Ejemplo de hemólisis características:

Streptococcus pneumoniae produce alfa hemólisis con una coloración verdosa alrededor de la colonia.

Streptococcus pyogenes produce beta hemólisis con una zona clara alrededor o debajo de la colonia.

El agar sangre puede ser usado para hacer subcultivo.

El medio esta libre de azucares reductores, ya que estos influirían de forma adversa en reacciones hemolíticas.

Composición por Litro:

- Digestivo pancreático de caseína -----15g
- Peptona de soja ----- 5g
- Cloruro sódico-----5g
- Agar-----15g
- Sangre ----- 50 – 80 ml

Preparación:

- Disolver 40 g/litro, esterilizar en autoclave (15 minutos a 121° C), dejar enfriar a 45 – 50°C, incorporar 5 a 8% de sangre desfibrinada, mezclar y verter en placas.
- El medio de cultivo preparado es, antes de la adición de sangre, claro y amarillo parduzco, posteriormente a la adición de sangre, es del color de la misma y no hemolizado.
- pH = 6,8 +/- 0,2 a 25 °C

- **AGAR CHOCOLATE.-**

Se utiliza para el aislamiento de bacterias exigentes.

El agar chocolate es un medio de aislamiento particularmente recomendado para el crecimiento de cepas exigentes pertenecientes a los géneros *Neisseria*, *Haemophilus* y *Streptococcus pneumoniae* encontrados en muestras clínicas.

Este medio está compuesto por una base nutritiva enriquecida con los factores X (hemina) y V (NAD) proporcionados por la hemoglobina.

Este medio puede usarse para hacer subcultivos y obtener cultivos puros.

Preparación del agar chocolate:

Después de añadir la sangre y agitando frecuentemente se mantiene el medio de cultivo a aprox. 80° C durante unos 10 minutos hasta que adquiera un color pardo achocolatado.

- **AGAR MANITOL SALADO.-**

Medio de cultivo selectivo y diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de estafilococos.

Es recomendado para el aislamiento de estafilococos patogénicos a partir de muestras clínicas.

Se trata de un medio altamente selectivo debido a su alta concentración salina. Los estafilococos coagulasa positiva hidrolizan el manitol acidificando el medio; las colonias aparecen rodeadas de una zona amarilla brillante. Los estafilococos coagulasa negativos, presentan colonias rodeadas de una zona roja o púrpura. Las colonias sospechosas, se repicarán en un medio sin exceso de cloruro de sodio para efectuarles, posteriormente, la prueba de la coagulasa.

En el medio de cultivo, el extracto de carne y la pluripectona, constituyen la fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales, el manitol es el

hidrato de carbono fermentable, el cloruro de sodio (que se encuentra en alta concentración) es el agente selectivo que inhibe el desarrollo de la flora acompañante, y el rojo fenol es el indicador de pH.

Las bacterias que crecen en un medio con alta concentración de sal y fermentan el manitol, producen ácidos, con lo que se modifica el pH del medio y vira el indicador de pH del color rojo al amarillo. Los estafilococos crecen en altas concentraciones de sal, y pueden o no fermentar el manitol.

Los estafilococos coagulasa positiva fermentan el manitol y se visualizan como colonias amarillas rodeadas de una zona del mismo color. Los estafilococos que no fermentan el manitol, se visualizan como colonias rojas, rodeadas de una zona del mismo color o púrpura.

Fórmula (en gramos por litro)

Extracto de carne -----	1
Pluripeptona -----	10
D-manitol -----	10
Cloruro de sodio -----	75
Agar -----	15
Rojo de fenol -----	0.025

Preparación:

- Suspender 111 gramos de polvo por litro de agua destilada.
- Reposar 5 minutos y mezclar calentando a ebullición durante uno o dos minutos.
- Distribuir y esterilizar en autoclave a 118 – 121°C durante 15 minutos.

Microorganismos	Crecimiento	Características de las colonias
<i>Staphylococcus aureus</i>	Excelente	Amarilla
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Bueno	Roja

- **AGAR MUELLER HINTON.-**

Sirve para realizar la prueba de sensibilidad a los antibióticos y sulfamidas.

El agar Mueller Hinton es un medio para realizar pruebas de sensibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco.

La composición del medio Mueller Hinton permite el crecimiento de las bacterias no exigentes (Enterobacterias, bacilos Gram negativos no fermentadores, estafilococos y enterococos) encontrados en patología humana.

Este medio garantiza mínimas interferencias entre los componentes del medio y el resultado de la prueba de sensibilidad antimicrobiana.

La concentración de iones divalentes en el medio esta ajustada para asegurar una determinación mas exacta de la sensibilidad de Pseudomonas frente a los aminoglucósidos y a las tetraciclinas.

La baja concentración de timina – timidina (inhibidores de sulfonamidas) restringe el crecimiento alrededor de los discos, permitiendo una medida más exacta de las zonas de inhibición.

COMPOSICIÓN: (en gramos por litro)

Infusión de carne -----	300
Peptona ácida de caseína -----	17.5
Almidón -----	1.5
Agar -----	15

PREPARACIÓN DEL AGAR MUELLER HINTON.-

- Agar base deshidratado.
- Suspender 38 g del polvo en un litro de agua purificada. Mezclar.
- Agitar frecuentemente por un minuto hasta disolver el polvo completamente.

- Llevar al autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Post autoclavado enfríe en baño a 45 – 50 °C.
- No sobrecalentar.
- Para agar Mueller-Hinton con 5% de sangre, en este punto adicionar asepticamente 50 ml de sangre estéril desfibrinada .
- Vierta a placa en superficie horizontal 4 mm de profundidad.
- Volumen: 60 – 70 ml para placas de 150 mm y 25 – 30 ml para placas de 100 mm.
- Enfríe a °T ambiente, almacene en refrigeración (4 – 8°C).
- Duración: 7 y hasta 14 días (en manga de polietileno).
- Realice control de esterilidad y calidad.
- P H final será 7,3 +/- 0,1 a 25°C

ANEXO 3

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE ESTAFILOCOCOS

- **PRUEBA DE LA CATALASA:**

Objetivo: Separar la familia *Micrococaceae* (catalasa positiva) de los Géneros *Streptococcus* (catalasa negativos).

Fundamento: La enzima catalasa descompone el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en agua y oxígeno bajo la fórmula:



De esta manera las bacterias se protegen del efecto tóxico del H₂O₂, que es un producto final del metabolismo aerobio de los azúcares.

Interpretación de resultados: El desprendimiento de burbujas se considera una prueba positiva.

- **PRUEBA DE LA COAGULASA:**

OBJETIVO: Permite separar *Staphylococcus aureus*, que posee coagulasa, de las otras especies de estafilococos que genéricamente se denominan coagulasa negativos.

FUNDAMENTO: *S. aureus* posee dos tipos de coagulasa:

- Una endocoagulasa o coagulasa ligada o “clumping factor” que está unida a la pared celular. Esta actúa directamente sobre el fibrinógeno provocando la formación de coágulos o grumos cuando se mezcla una suspensión bacteriana con plasma citratado (test en lámina).
- Una exocoagulasa o coagulasa libre que actúa mediante la activación de un factor (CRF), formándose un complejo coagulasa-CRF, el cual

reacciona con el fibrinogeno produciéndose un coagulo de fibrina (test en tubo).

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS: Se observa la formación de un coagulo total o parcial si el test es positivo.

PRUEBAS PARA IDENTIFICAR LAS DISTINTAS ESPECIES DE ESTAFILOCOCOS

Carácter	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. schleiferi</i>
Tamaño de la colonia (grande)	+	-	+	+	V	-
Pigmento de la colonia	+	-	V	V	V	-
Producción de ácido por fermentación de manitol	+	-	V	V	-	-
Coagulasa	+	-	-	-	-	-
Hemólisis	+	-	-	+	+	+
Resistencia a la novobiocina	-	-	+	-	-	-
Fosfatasa	+	+	-	-	-	+
Desoxirribonucleasa	+	-	-	-	-	+
Hidrólisis del PYR	-	-	-	+	+	+
Ureasa	V	+	+	-	V	-

+ , positivo. - , negativo. V, variable.
 PYR: L-pirrolidoni-β-naftilamida

ANEXO 4

HEMÓLISIS

Luego de determinar que se trata de un coco Gram positivo catalasa negativo, debemos proceder a observar el efecto que tiene la cepa sobre el agar sangre (hemólisis). Así podemos clasificar este grupo de gérmenes en:

- Beta-hemolíticos: Son aquellos que producen una hemólisis total de los glóbulos rojos, observándose como un halo transparente alrededor de las colonias.
- Alfa-hemolíticos: Son aquellos que producen hemólisis parcial, la cual se observa como un halo con tonalidad verdosa alrededor de las colonias.
- Gama-hemolíticos: Son aquellos que no producen hemólisis sobre el agar sangre.

Tipos de Hemólisis

Hemólisis	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. viridans</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. agalactiae</i>
Alfa (parcial)		<i>x</i>	<i>x</i>	
Beta (completa)	<i>x</i>			<i>x</i>
Gamma(no hay)				

ANEXO 5

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE ESTREPTOCOCOS BETA-HEMOLÍTICOS

○ SENSIBILIDAD A LA BACITRACINA.-

OBJETIVO: Separar el *Streptococcus pyogenes* de los demás estreptococos beta-hemolíticos.

FUNDAMENTO: *Streptococcus pyogenes* es sensible a bajas concentraciones de bacitracina (discos conteniendo 0,04 U). También existe un 5% de cepas de *Streptococcus agalactiae* que son sensibles a la bacitracina.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS: La aparición de cualquier diámetro de halo de inhibición de crecimiento alrededor del disco se considera prueba positiva.

○ PRUEBA DE CAMP.-

Streptococcus pyogenes da negativa esta prueba, la cual se realiza para diferenciarlo del *Streptococcus agalactiae* que también es beta hemolítico.

INTERPRETACION DE RESULTADOS:

El resultado positivo se manifiesta por una zona de hemólisis intensa en la confluencia de las estrías, en forma de flecha apuntando a la estría de *S. aureus*.

Los estreptococos del grupo B (*Streptococcus agalactiae*) producen una hemolisina cuyo efecto es potenciado por la beta lisina de *S. aureus*, una fosfolipasa C que afecta a la membrana de los hematíes.

PRUEBAS DE DIFERENCIACIÓN DE LAS DISTINTAS ESPECIES DE ESTREPTOCOCOS

<i>Nombre</i>	<i>Grupos de Lancefield</i>	<i>Tipo de hemólisis</i>	<i>Pruebas bioquímicas</i>
<i>S. pyogenes</i>	A	Beta	PYR positivo Bacitracina S
<i>S. agalactiae</i>	B	Beta	Hidrólisis de hipurato CAMP positivo
<i>Enterococcus sp.</i>	D	Alfa o beta	Crece en bilis e hidrolizan la esculina Crece en NaCl al 6,5 % Son PYR positivos
<i>S. anginosus</i>	A (C, F, G) y no tipable	Beta	Colonias diminutas (<1 mm de diámetro) Los del grupo A son bacitracina R y PYR negativos
	No tipable	Alfa o ninguna	Fermentación de azúcares
<i>S. bovis</i>	D	No hemólisis	Crece en bilis e hidrolizan la esculina. No crece en NaCl al 6,5 % Hidrolizan el almidón
<i>S. grupo viridans</i>	No tipable	Alfa o ninguna	Optoquina R Colonias solubles en bilis Fermentación de azúcares
<i>S. pneumoniae</i>	No tipable	Alfa	Optoquina S Colonias solubles en bilis Reacción de «Quellung» positiva

ANEXO 6

ANTIBIOGRAMA POR EL MÉTODO DE KIRBY BAUER

- **INDICACIONES PARA UN ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO**

- Cualquier microorganismo que requiera terapia, cuya susceptibilidad sea impredecible.
- Microorganismos con susceptibilidad predecible en pacientes con antecedente de hipersensibilidad a fármacos.
- Especie aislada potencialmente resistente a los antimicrobianos de uso común.
- Estudios epidemiológicos de resistencia.
- Evaluación de nuevos agentes antimicrobianos.

- **CONDICIONES PARA UN ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD:**

- Trabajar con colonias aisladas.
- No realizar en forma directa de material clínico.
- No efectuar estudio a la flora microbiana residente o a microorganismos improbablemente relacionados con el proceso infeccioso.

- **PRUEBA DE DIFUSIÓN POR DISCO**

El principio de las pruebas de difusión por disco ha sido utilizado por más de 70 años en los laboratorios de microbiología.

Los doctores Bauer, Kirby, Sherris y Turck probaron minuciosamente todas las variables involucradas en el proceso, tales como los medios de cultivo, la temperatura y el espesor del agar. En 1966, ellos publicaron su estudio cimerio describiendo la prueba que se usa en la actualidad.

- **COMO PREPARAR Y ESTANDARIZAR LA SUSPENSIÓN DEL INOCULO:**

Se utilizara el método de suspensión directa de colonias, para lo cual la turbidez de la suspensión debe ser estandarizada (para que sea igual) al estándar 0,5 de Mc Farland (lo que corresponde a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ CFU/ml). Las suspensiones así ajustadas deben utilizarse como inóculo dentro de los 15 minutos siguientes.

- **EL MEDIO BASE RECOMENDADO PARA REALIZAR UN ANTIBIOGRAMA POR DIFUSIÓN:**

Es el agar Mueller Hinton por:

- Su reproducibilidad aceptable.
- Baja concentración de inhibidores, condición crítica para evaluar sulfonamidas, trimetoprim y tetraciclina.
- El crecimiento satisfactorio de patógenos no fastidiosos.
- Existir ya gran experiencia en estudios de susceptibilidad.

- **COMO PREPARARSE PARA LA INOCULACIÓN DE LA PLACA:**

- Retire el contenedor de discos del congelador o refrigerador.
- Antes de abrir el contenedor, permita que los discos se equilibren a la temperatura ambiente durante una o dos horas para minimizar la condensación y reducir la posibilidad de que la humedad afecte la concentración de los agentes antimicrobianos.
- Permita que la placa de Agar Mueller-Hinton (MHA) se caliente a la temperatura ambiente para que cualquier exceso de humedad se absorba dentro del medio. Este proceso se puede acelerar poniendo las placas entreabiertas en el incubador por 10-15 minutos.
- Asegúrese que la placa de MHA tenga la profundidad adecuada de 4 mm.

ANEXO 7

ESCALA DE MC FARLAND

(Etalon Mc Farland)

Un Mc Farland 0,5 corresponde a un desarrollo de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml.

Los estándares de Mc Farland están hechos ya sea de sulfato de bario o partículas de látex. Si usa sulfato de bario, agite antes de usar, si usa látex, invierta para mezclar.

• METODO DE PREPARACIÓN DEL 0,5 STANDARD DE MCFARLAND

Reactivos:

- 0,5 ml de cloruro de bario (Ba Cl_2) 0,048 M
- 99,5 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,36 N

Método de preparación:

- Añadir 0,5 ml de BaCl_2 a 99,5 ml de H_2SO_4 .
- Revuelva para mantener en suspensión.
- Mezclar completamente antes de proceder al siguiente paso.
- Distribuya 5 ml de la solución de McFarland en tubos de diámetros similares.
- Cuando estos estándares están en suspensión completa, la turbidez equivale a un cultivo que contiene $1,5 \times 10^8$ ufc/ml
- Los tubos que contienen la solución de 0,5 McFarland se deben guardar en un lugar oscuro, a temperatura ambiente.

ANEXO 8

Tabla de Interpretación de los halos de inhibición.

Antimicrobiano	Carga del disco	Resistente (mm)	Intermedio (mm)	Sensible (mm)
Penicilina (estreptococos)	10 U	Menor a 24		Mayor o igual a 24
Ceftriaxona (beta hemolíticos)	30 ug	Menor a 24		Mayor o igual a 24
Eritromicina (estreptococos)	15 ug	Menor o igual a 15	16 a 20	Mayor o igual a 21
Clindamicina (estreptococos)	2 ug	Menor o igual a 15	16 a 18	Mayor o igual a 19
Penicilina (estafilococos)	10 U	Menor o igual a 28	-----	Mayor o igual a 29
Oxacilina (S. aureus)	1 ug	Menor o igual a 10	11 a 12	Mayor o igual a 13
Gentamicina	10 ug	Menor o igual a 12	13 a 14	Mayor o igual a 15
Eritromicina (estafilococos)	15 ug	Menor o igual a 13	14 a 22	Mayor o igual a 23
Clindamicina (estafilococos)	2 ug	Menor o igual a 14	15 a 20	Mayor o igual a 21
Trimetoprin/sulfametoxazol	1,25/23,75 ug	Menor o igual a 10	11 a 15	Mayor o igual a 16
Amoxicilina/clavulanico (estafilococos)	20/10 ug	Menor o igual a 19		Mayor o igual a 20
Amoxicilina/clavulanico (otros)	20/10 ug	Menor o igual a 13	14 a 17	Mayor o igual a 18
Ceftriaxona (otros)	30 ug	Menor o igual a 13	14 a 20	Mayor o igual a 21
Cefaclor	30 ug	Menor o igual a 14	15 a 17	Mayor o igual a 18
Cefalexina*	30 ug	Menor o igual a 14	15 a 17	Mayor o igual a 18
Azitromicina* (estreptococos)	15 ug	Menor o igual a 15	16 a 20	Mayor o igual a 21
Azitromicina* (estafilococos)		Menor o igual a 13	14 a 22	Mayor o igual a 23

Fuente:Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Metodo de Disco Difusión. INS. 2002

*valores deducidos de moléculas semejantes.

ANEXO 9

MEDICION DE ZONAS DE INHIBICION PARA *S. pyogenes*.

En mm.

Muestra #	P	CLX	CEC	CRO	AMC	AZM	E	SXT	GM	CC
2	16	16	18	20	20	22	20	14	18	17
3	18	14	14	14	22	16	18	20	22	20
4	28	30	26	27	25	24	20	28	19	24
5	12	22	22	24	16	16	14	16	14	14
6	27	26	28	29	30	25	26	26	23	24
10	30	28	28	30	26	20	18	30	20	30
14	30	30	30	30	30	30	30	30	30	18
16	22	20	20	20	24	20	22	18	18	20
18	20	16	16	16	24	24	24	20	20	18
19	20	0	16	16	20	18	16	16	18	16
26	26	8	18	22	24	18	24	18	20	20
37	30	0	22	24	30	12	0	30	18	0
42	26	0	14	20	20	18	16	20	20	26
43	18	0	20	24	22	15	12	20	20	0
45	20	0	8	22	24	22	16	20	16	0
46	28	0	15	26	24	18	8	16	14	0
50	28	0	28	28	28	10	16	20	20	12
51	18	17	20	28	18	20	22	26	20	24
59	28	26	10	30	30	24	28	24	28	28
60	30	14	30	30	30	30	30	30	30	0
61	24	0	30	28	24	26	22	12	24	16
62	26	11	26	26	28	24	26	24	24	12
66	16	18	16	28	24	18	20	18	24	22
69	28	20	18	24	26	14	20	16	10	20
76	30	28	28	30	30	30	28	28	30	28
82	20	22	23	28	26	24	24	14	21	26
85	20	12	12	27	16	24	14	20	10	25
86	12	26	22	28	30	19	21	17	20	23
89	0	28	20	30	24	24	26	32	17	25
92	25	27	24	26	29	30	18	30	25	9

Leyenda:

P = Penicilina

AZM = Azitromicina

CLX = Cefalexina

E = Eritromicina

CEC= Cefaclor

SXT = Cotrimoxazol

CRO= Ceftriaxona

GM = Gentamicina

AMC= Amoxicilina/acido clavulanico

CC = Clindamicina

MEDICION DE ZONAS DE INHIBICION PARA *S. aureus*.

EN mm.

Muestra #	OXC	P	CLX	CEC	CRO	AMC	AZM	E	SXT	GM	CC
2	20	20	20	20	21	24	23	20	24	22	24
5	20	16	20	20	25	17	12	14	15	21	12
13	16	16	16	18	18	24	22	24	18	20	20
21	21	18	24	20	20	24	24	20	28	20	18
22	18	14	16	18	18	14	24	20	22	20	16
28	16	20	18	20	16	26	16	16	20	16	17
30	18	24	9	14	20	22	26	25	20	20	12
36	18	17	18	6	24	25	26	20	26	21	22
44	20	15	13	20	16	16	17	12	18	16	0
45	27	0	0	11	16	16	12	9	23	14	0
47	20	0	0	11	16	15	17	14	20	19	0
51	20	20	20	20	30	30	28	28	30	24	26
56	16	30	20	24	30	28	20	24	30	24	24
57	20	20	16	16	30	26	24	24	30	22	24
65	0	18	18	18	34	11	17	20	34	24	20
66	22	20	24	26	24	24	16	28	28	18	22
67	20	30	26	30	30	30	20	30	30	24	30
70	20	20	20	20	26	20	22	24	34	18	34
71	16	15	16	16	30	30	18	22	28	16	18
72	15	18	18	18	20	20	26	15	30	30	10
73	20	18	28	30	30	30	18	28	30	18	26
74	30	26	28	30	28	30	30	24	28	26	30
79	12	23	20	20	22	20	22	26	24	23	17
83	12	18	16	15	26	26	18	18	24	24	23
85	9	16	12	13	12	17	12	11	26	10	24
88	0	11	19	18	27	10	22	14	20	23	17

Leyenda:

- OXC= Oxacilina
- P = Penicilina
- CLX = Cefalexina
- CEC= Cefaclor
- CRO= Ceftriaxona
- AMC= Amoxicilina/acido clavulanico
- SXT = Cotrimoxazol
- GM = Gentamicina
- CC = Clindamicina
- AZM = Azitromicina
- E = Eritromicina

ANEXO 10

Interpretación de los halos de inhibición encontrados:

Para *S. pyogenes*:

Muestra #	P	CLX	CEC	CRO	AMC	AZM	E	SXT	GM	CC
2	R	I	S	R	S	S	I	I	S	I
3	R	R	R	R	S	I	I	S	S	S
4	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
5	R	S	S	S	I	I	R	S	I	R
6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
10	S	S	S	S	S	I	I	S	S	S
14	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I
16	R	S	S	R	S	I	S	S	S	S
18	R	I	I	R	S	S	S	S	S	I
19	R	R	I	R	S	I	I	S	S	I
26	S	R	S	R	S	I	S	S	S	S
37	S	R	S	S	S	R	R	S	S	R
42	S	R	R	R	S	I	I	S	S	S
43	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R
45	R	R	R	R	S	S	I	S	S	R
46	S	R	I	S	S	I	R	S	I	R
50	S	R	S	S	S	R	I	S	S	R
51	R	I	S	S	S	I	S	S	S	S
59	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
60	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R
61	S	R	S	S	S	S	S	I	S	I
62	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R
66	R	S	I	S	S	I	I	S	S	S
69	S	S	S	S	S	R	I	S	R	S
76	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
82	R	S	S	S	S	S	S	I	S	S
85	R	R	R	S	I	S	R	S	R	S
86	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S
89	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
92	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R

Leyenda:

P = Penicilina AMC = Amoxicilina/clavulánico
 CLX = Cefalexina AZM = Azitromicina GM = Gentamicina
 CEC= Cefaclor E = Eritromicina CC = Clindamicina
 CRO= Ceftriaxona SXT = Cotrimoxazol

Interpretación de los halos de inhibición:

Para *S.aureus*:

Muestra #	OXC	P	CLX	CEC	CRO	AMC	AZM	E	SXT	GM	CC
2	S	R	S	S	S	S	S	I	S	S	S
5	S	R	S	S	S	R	R	I	I	S	R
13	S	R	I	S	I	S	I	S	S	S	I
21	S	R	S	S	I	S	S	I	S	S	I
22	S	R	I	S	I	R	S	I	S	S	I
28	S	R	S	S	I	S	I	I	S	S	I
30	S	R	R	R	I	S	S	S	S	S	R
36	S	R	S	R	S	S	S	I	S	S	S
44	S	R	R	S	I	R	I	R	S	S	R
45	S	R	R	R	I	R	R	R	S	I	R
47	S	R	R	R	I	R	I	I	S	S	R
51	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
56	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
57	S	R	I	I	S	S	S	S	S	S	S
65	R	R	S	S	S	R	I	I	S	S	I
66	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S
67	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
70	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S
71	S	R	I	I	S	S	I	I	S	S	I
72	S	R	S	S	I	S	S	I	S	S	R
73	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S
74	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
79	I	R	S	S	S	S	I	S	S	S	I
83	I	R	I	I	S	S	I	I	S	S	S
85	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
88	R	R	S	S	S	R	S	R	S	S	I

Leyenda:

OXC= Oxacilina

P = Penicilina

CLX = Cefalexina

CEC= Cefaclor

CRO= Ceftriaxona

AMC= Amoxicilina/ clavulánico

AZM = Azitromicina

E = Eritromicina

SXT = Cotrimoxazol

GM =Gentamicina

CC = Clindamicina