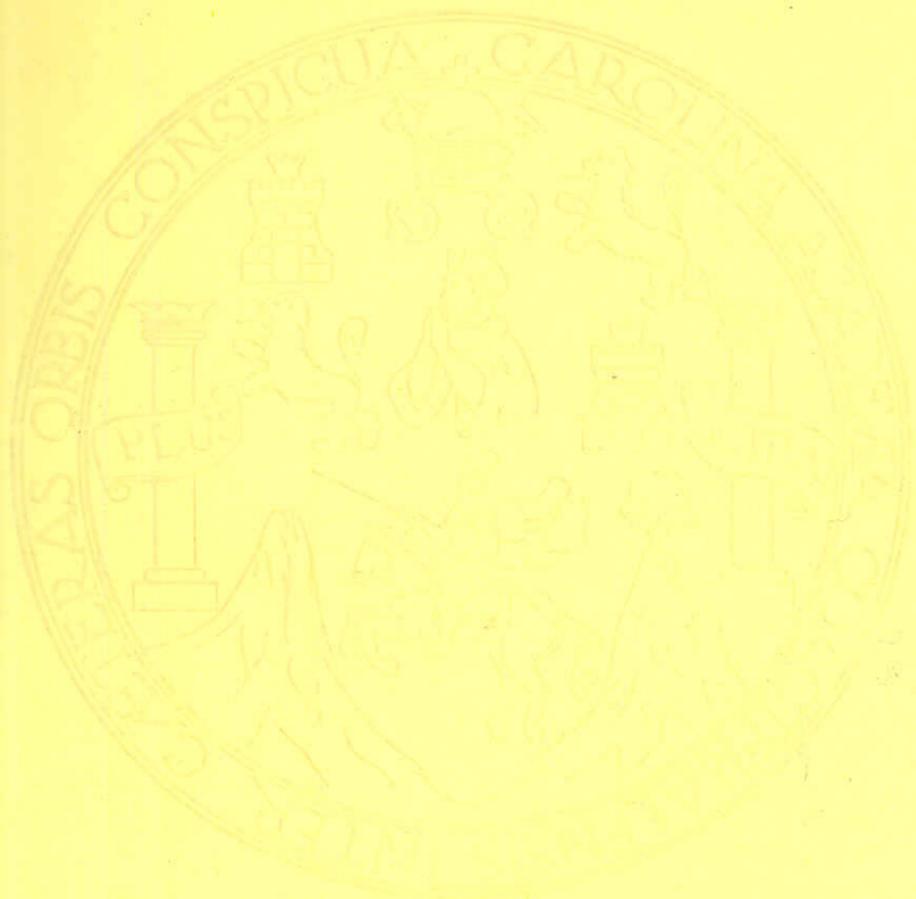


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DEL
ESTREPTOCOCO BETA HEMOLITICO EN LA
CIUDAD DE GUATEMALA



DINORA EUGENIA FUENTES MORALES

MEDICA Y CIRUJIANA

Indice

Título	1 ⁴
Subtítulo	2
Indice	3
I. Introducción	4
II. Definición del problema	5
III. Justificación	7
IV. Objetivos	8
V. Revisión de literatura	9
• Breve descripción microbiológica de los estreptococos	9
• Antecedentes sobre resistencia bacteriana de los estreptococos hemolíticos	17
• Información sobre E-test	22
VI. Material y Método	23
VII. Presentación de resultados	29
VIII. Discusión	33
IX. Conclusiones	36
X. Recomendaciones	37
XI. Resumen	38
XII. Referencias	39
XIII. Anexo	42

I. Introducción

Los Estreptococos Beta Hemolíticos constituyen una causa frecuente de infecciones en la población guatemalteca, ejemplificadas en las faringitis, impétigo, erisipelas y celulitis.

Durante mucho tiempo se ha considerado a dichos microorganismos como altamente susceptibles al tratamiento con antibióticos como penicilinas y macrólidos, relativamente asequibles al usuario desde el punto de vista económico. No obstante, cierto grado de confusión se percibe entre los médicos producto de la aparición de cepas de neumococos resistentes a tales antibióticos, así como reportes de otros países en donde han ocurrido brotes de resistencia particularmente a eritromicina (6,14,18).

Al tener la oportunidad de realizar una medición de la concentración inhibitoria mínima por medio de E-test *-un método para practicar antibiogramas de comprobada confiabilidad (2,4) aunque poco conocido en Guatemala-*, se diseñó el presente estudio que a la postre comprobó la baja posibilidad de aislar en el país una cepa resistente a los antibióticos mencionados, de modo que los médicos puedan seguir contando con ellos en su arsenal terapéutico.

II. Definición del Problema

A mediados del decenio de 1980 comenzaron a registrarse brotes epidémicos de infecciones graves e invasoras por estreptococos β hemolíticos del grupo A y de fiebre reumática aguda, sobretodo en escolares de clase socioeconómica media-baja y reclutas de Los Estados Unidos de Norteamérica. Coincidentemente una mayor atención fue prestada a casos de infecciones serias sistémicas ocasionadas por dichos microorganismos, tales como el síndrome del choque tóxico estreptocócico (6).

Como explicación de este resurgimiento en las infecciones por estreptococos β hemolíticos se plantearon varias hipótesis, probablemente una de las más atractivas -aunque no necesariamente la más certera- correspondió a que habría ocurrido un cambio substancial en la susceptibilidad de estos estreptococos a los antibióticos de uso común (6). Para atizar esta corriente, varios autores fueron publicando experiencias de aislamientos de cepas penicilino-resistentes in vitro. También de mucha importancia se consideró la resistencia a eritromicina, etc. Así, en un mundo en que las casas farmacéuticas luchan por colocar sus productos en mejores posiciones de venta, el médico comenzó a ser bombardeado con información que enfatizaba la peligrosidad de las "proliferantes" cepas de estreptococo asesino penicilino-resistente.

Toda esta información proveniente sobretodo de Europa ha generado especulación entre los médicos guatemaltecos, discutiéndose muchas veces sin bases sólidas si uno u otro antibiótico debe ser utilizado por la posibilidad de que se enfrente un paciente con un estreptococo resistente. Tal situación reviste particular importancia cuando se considera la diferencia de precios entre la penicilina -fármaco considerado de primera elección en

las infecciones causadas por estreptococos- y sus alternativas terapéuticas.

En Guatemala algunos estudios realizados con el método de Bauer Kirby desde el año 1973 (7) no han demostrado resistencia de estreptococo β hemolítico a la penicilina, sino solamente 2% a eritromicina (7). Recientemente un artículo respaldado por la Organización Mundial de la Salud a través de su Centro Colaborativo para la referencia e investigación del Estreptococo, ha enfatizado que el panorama de resistencia parece limitarse a ciertas regiones del mundo, siendo de especial importancia la resistencia a la eritromicina -pues en algunos países en desarrollo la prevalencia de resistencia supera el 3%-. De mayor importancia aún, es que hasta ahora ninguna cepa resistente in vitro ha sido directamente relacionada con la traducción a peor evolución clínica (9,11).

En síntesis dadas las publicaciones de otros países y la inexistencia de un control local institucional sobre los diferentes patrones de resistencia, se plantean las siguientes preguntas :

- Cuáles son las concentraciones inhibitorias mínimas de los Estreptococos β Hemolíticos en la Ciudad de Guatemala a los antibióticos *Penicilina, Amoxicilina* y *Eritromicina* ?
- Existen realmente en Guatemala Estreptococos Penicilina Resistentes ?

III. Justificación

El presente proyecto se fundamentó en las siguientes premisas:

- Es necesario complementar los estudios de susceptibilidad con determinación de concentración inhibitoria mínima del *Streptococo* frente a los antibióticos de uso frecuente en el país, para evitar la especulación en el medio, lo cual lleva muchas veces a utilizar antibióticos que no son de primera línea para tratar las infecciones ocasionadas por estos gérmenes.
- Si bien existen estudios sobre el patrón de resistencia, éstos se basan en el método de difusión en placa usando discos de antimicrobianos (Bauer Kirby) que permite clasificar las cepas como susceptibles o resistentes, pero no puede determinar así la concentración inhibitoria mínima.
- El antibiótico Penicilina fue escogido por constituir la primera línea de tratamiento y ser además hacia el cual se refieren los estudios que alarman sobre la resistencia *-penicilina resistentes-*.
- El antibiótico Amoxicilina se eligió por constituir una alternativa de administración oral de uso frecuente en el país, De hecho, actualmente los centros de atención gubernamental cuentan con éste para la atención de los usuarios.
- El antibiótico Eritromicina se incluyó por ser la alternativa oral en quienes se supone alergia a las penicilinas. Además, se tiene registrada resistencia no mayor de 5% en otros países y 2% localmente.
- Los resultados derivados del presente estudio constituyen una base para que los médicos elijan su prescripción más técnicamente.

IV. Objetivos

Objetivo General

Determinar la resistencia antimicrobiana de *Streptococo Beta Hemolítico* en la Ciudad de Guatemala.

Objetivos Específicos

Determinar la concentración inhibitoria mínima de *Streptococos Beta Hemolíticos* respecto a los siguientes antibióticos :

- Penicilina
- Amoxicilina
- Eritromicina

V. Revisión de Literatura

I. Breve Descripción Microbiológica de los Estreptococos

Los estreptococos son un grupo grande de bacterias pertenecientes a la familia *Streptococcaceae*. Algunos miembros de este género son notables patógenos humanos, mientras que otros constituyen parte de la microbiota indígena de la orofarínge y el tracto gastrointestinal. Algunas especies son responsables de la formación de la placa dental y otros ocasionan secuelas no supurativas como la fiebre reumática, glomerulonefritis y corea. Las especies patogénicas más importantes para el humano incluyen *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus faecalis*, los viridans y el *Streptococcus pneumoniae*.

A. Características

1. Morfología

Los estreptococos son cocos Gram positivo que se organizan en cadenas de longitud variable, dependiente generalmente de la especie. Los estreptococos β hemolíticos como el *Streptococcus pyogenes* usualmente aparecen en largas cadenas de 10-15 células, mientras que estreptococos orales como el *Streptococcus mutans* frecuentemente se observan en pares.

1.1 Individualmente su tamaño varía de 0.5 a 1.0 μm de diámetro dependiendo de las condiciones de crecimiento y la vejez del cultivo.

1.2 Colonias de la mayoría de estreptococos son pequeñas (0.5-2 mm de diámetro), color gris a blanco grisáceo en agar sangre. En contraste, colonias de *Streptococcus faecalis* comúnmente son largas y blancas, parecidas a las colonias del *Staphylococcus epidermidis*.

1.3 Hemólisis sobre agar sangre de carnero constituye una característica específica de grupo para los estreptococos.

1.3.a Alfa Hemólisis: definida como la incompleta destrucción de los eritrocitos que resulta en *decoloración verde* del medio que rodea las colonias. La pigmentación verdosa se debe a la biliverdina y otros componentes heme. Muchos de los estreptococos orales y el *Streptococcus pneumoniae* (*neumococo*) son α hemolíticos.

1.3.B. Beta Hemólisis: definida como la completa lisis de los eritrocitos y resulta en *una distintiva zona clara* alrededor de las colonias. La β hemólisis es mejor visualizada bajo condiciones de baja tensión de oxígeno (por ejemplo en las áreas que se cortan en el agar) lo cual se debe a que las hemolisinas son lábiles al oxígeno. *Los estreptococos de la clasificación Lancefield A,B,C y G son típicamente β hemolíticos.*

1.3.C. Gamma Hemólisis : se caracteriza por no haber efecto visible sobre el agar sangre de carnero por lo que la designación indica que no hubo hemólisis.

1.4 Formas L : Son bacterias estables en medios hipertónicos. Inducidas fácilmente en las especies de estreptococos por exposición a penicilina o por fagos asociados a lisina en estreptococos del grupo C. Se ha sugerido que tales formas L son responsables de la persistencia del estreptococo en los tejidos, pero su papel exacto en la producción de enfermedad en el humano se desconoce.

2. Composición antigénica.

En los estreptococos es variada y compleja. Los componentes celulares inducen tanto anticuerpos grupo-específicos como tipo-específicos.

2.1 Carbohidratos grupo-específicos de la pared celular de los estreptococos son utilizados para clasificarlos en géneros serológicos que abarcan por lo menos **18 grupos designados de A a la R** por el sistema de clasificación de Lancefield. Ahora se sabe que el antígeno grupo-específico del estreptococo grupo D es en realidad el ácido teicoico, un componente de la membrana celular.

2.2 Proteínas M Tipo Específicas : son limitadas casi exclusivamente a los **estreptococos grupo A** y son responsables de la virulencia de dichas bacterias por virtud de sus propiedades antifagocíticas. Los largos complejos de proteína M contienen fimbrias que son importantes en la unión de los estreptococos grupo A a las células susceptibles del hospedero. **Más de 80 tipos antigénicos** de proteínas M han sido aisladas de estreptococos del grupo A.

2.3. Antígenos T: son proteínas que no se relacionan con la virulencia y tampoco inducen anticuerpos protectores en pacientes infectados. Algunos antígenos T son asociados con una sola proteína M, mientras otras son compartidas por varias proteínas M. Los antígenos T se usan para la identificación en el laboratorio de estreptococos del grupo A incapaces de sintetizar proteína M o cuando no se tiene a la mano el antisuero.

2.4 Antígenos R: son proteínas asociadas con los grupos A,B,C,G y L. Estos antígenos no proporcionan protección y su significado es desconocido.

3. Metabolismo

Los estreptococos son **catalasa negativos** (por ejemplo, ellos no tienen el sistema citocromo). Son anaerobios facultativos que fermentan carbohidratos para formar ácido láctico. La mayoría de estreptococos que son virulentos para los humanos son fastidiosos en sus requerimientos nutritivos; la adición de sangre completa o suero a los medios de cultivo favorece grandemente su desarrollo.

4. Patogenia de la enfermedad estreptocócica

Deben considerarse tanto la producción de infecciones activas como el desarrollo de secuelas no supurativas.

4.1 Factores de virulencia

El *Streptococcus pyogenes* probablemente el más importante patógeno humano. Adicionalmente a la proteína M produce más de 25 sustancias antigénicas extracelulares. Solo un pequeño grupo de éstas han sido caracterizadas en su estructura y actividad biológica.

4.1.A Proteína M: Constituye probablemente el factor de mayor virulencia de los estreptococos A. No solo es antifagocítica, sino que en su forma purificada se ha mostrado capaz de precipitar fibrinógeno, agrupar plaquetas y leucocitos, lisar neutrófilos e inhibir la migración leucocitaria a través de los capilares. Factores séricos, probablemente relacionados con el complemento, son requeridos para la actividad citotóxica de la proteína M. Este antígeno es responsable de la adherencia de los estreptococos A a las células epiteliales. Es altamente inmunogénica.

4.1.B Estreptolisina O: Es una proteína lábil al oxígeno responsable de la β hemólisis alrededor de las colonias correspondientes a los grupos A, C y G. Sus actividades citolíticas y hemolíticas ocurren únicamente bajo condiciones reductoras por la labilidad de su grupo sulhidrilo. Esta también es inhibida por el colesterol y otros estéres. La

estreptolisina O es cardiotóxica para los animales de laboratorio.

4.1.C. Estreptolisina S: Es un péptido no antigénico oxígeno-estable encontrado y liberado de la superficie del estreptococo. La liberación de estreptolisina S involucra a varias proteínas portadoras inespecíficas para llegar eventualmente a las células de mamíferos. Puede ser inactivada por los fosfolípidos. La estreptolisina S es tanto citotóxica como hemolítica.

4.1.D. Toxina eritrogénica: Más correctamente conocida como toxina pirogénica estreptocócica, es producida por la mayoría de cepas de estreptococos del grupo A como una o más de tres sustancias inmunológicamente distintas. Dichas toxinas están constituidas principalmente por proteína y ácido hialurónico y su producción probablemente está mediada por profagos temperatura dependientes. La toxina pirogénica estreptocócica ocasiona fiebre y exantema, incrementando la susceptibilidad al choque endotóxico, altera la respuesta inmune, daña macrófagos y es mitogénica para los linfocitos. Su rol exacto en la patogénesis de las enfermedades estreptocócicas no es claro, aunque se le atribuye un papel relevante en la sintomatología de la fiebre escarlatina.

4.1.E Estreptoquinasa : Esta activa el sistema fibrinolítico en la sangre humana. La estreptoquinasa actúa como un factor de virulencia al lizar los coágulos y la fibrina alrededor de los estreptococos. En su forma purificada ha sido utilizada clínicamente para el desbridamiento de superficies infecciosas, tratamiento de exudados fibrinosos, incremento en la curación de heridas y para trombolisis en fenómenos trombóticos intravasculares (infarto agudo del miocardio por ejemplo).

4.1.G Factores de diseminación: son enzimas extracelulares que ayudan al crecimiento esteptocócico en los tejidos al licuar las barreras de exudados inflamatorios. Los estreptococos del grupo A producen hialuronidasa, ribonucleasa y cuatro variedades de deoxiribonucleasas. Todas ellas son factores inmunogénicos.

4.2 Secuelas

Este apartado corresponde a las complicaciones no supurativas de las infecciones estreptocócicas, hayan sido éstas evidentes o pasadas por alto clínicamente. Únicamente se mencionará que se trata de la fiebre reumática (cuya afección puede incluir carditis, corea y artritis entre las más llamativas) y la glomerulonefritis aguda. El detalle sobre éstas se encuentra en los textos de Medicina Interna.

5. Inmunidad

La inmunidad a las infecciones por estreptococos del grupo A es tipo-específica con respuesta humoral inducida por proteína M. Los anticuerpos anti-M son principalmente IgG, y ellas actúan como opsoninas. Los títulos de los anticuerpos se elevan lentamente a lo largo de un periodo de 30-60 días luego de la infección estreptocócica. Debido a la existencia de más de 80 tipos de proteína M, la consideración y uso de la vacuna debe individualizarse para cada población. Los anticuerpos inducidos por otros productos de los estreptococos del grupo A, ni son protectores ni juegan papel alguno en la inmunidad.

6. Epidemiología

4.1 Los estreptococos del grupo A son responsables de una buena parte de las faringitis, amigdalitis o tonsilitis que ocurren frecuentemente en niños entre 5 y 15 años. La bacteria es diseminada por partículas o gotitas suspendidas

en el aire y respiradas posteriormente por otras personas, jugando también algún papel los fómites. Aunque tales bacterias pueden ser cultivadas del polvo y otras superficies expuestas al medio ambiente, éstas tienden a ser no infecciosas. Dada la frecuente ocurrencia de infecciones leves, muchos casos pasas desapercibidos y la mayoría de los niños han sido ya expuestos a los estreptococos hacia los 10 años de edad.

7. Otras anotaciones importantes de los Estreptococos β Hemolíticos diferentes a los del grupo A.

7.1.A Composición antigénica : El *S.agalactiae* posee antígenos capsulares y de tipo protéico, los cuales son utilizados para dividir a la bacteria en 5 serotipos: Ia,Ib,Ic,II y III.

7.1.B Enfermedades producidas: El *S.agalactiae* en su tipo III causa frecuentemente meningitis neonatal y el tipo Ia es causante de neumonía neonatal. Infecciones en adultos son esporádicas y no tienen correlación específica con el tipo.

7.1.C Inmunidad : Se produce por la producción de anticuerpos contra los antígenos específicos. La madre transfiere vía placentaria anticuerpos al neonato contra el tipo III y consecuentemente contra la meningitis ocasionada por éste. Los anticuerpos contra el Ia son opsoninas y no se trasladan transplacentariamente.

7.1.D Epidemiología : El *S.agalactiae* ha sido frecuentemente aislado de la nasofaringe de individuos sanos. Los estreptococos B son parte de la microbiota indígena gastrointestinal de por lo menos 30% de la población, así como del 30% de la microbiota urogenital de las mujeres.

7.2 Estreptococos del grupo D de Lancefield

Aquí se incluyen los *S.faecalis*, *S.faecium* (vg. El enterococo), *S.durans*, *S.bovis* y *S.equinus*.

7.2.A Composición antigénica: Los antígenos grupo-específicos son únicos entre los estreptococos. Se trata del glicerol-ácido teicoico conteniendo D-alanina y glucosa. Probablemente se le localice en la pared celular.

7.2.B Epidemiología : El *S.faecalis* coloniza eventualmente el tracto gastrointestinal del humano, comportándose como un oportunista o invasor secundario de tejidos dañados. El enterococo puede ocasionalmente causar infecciones urinarias particularmente en inmunosuprimidos.

7.2.C Metabolismo : El enterococo crece en la mayoría de medios rutinarios de cultivo pues, a diferencia de los demás estreptococos es poco fastidioso en sus requerimientos nutricionales. El enterococo puede causar tanto α como β hemólisis en el agar sangre de carnero.

7.3 Estreptococos de grupos C y G:

Aquí se incluye una variedad de especies tales como *S.equisimiles*, *S.zooepidemicus*, *S.equi* y *S.disgalactiae*.

7.3.A Factores de virulencia: La estreptolisina O es producida tanto por los del grupo C como los G, no obstante su rol en la patogenia es desconocido. Los del grupo C producen ácido hialurónico en su cápsula, lo cual es antifagocítico.

7.3.B Epidemiología Se les encuentra frecuentemente en la nasofaringe de individuos sanos. Su presencia no conlleva el riesgo de secuelas no supurativas como fiebre reumática o glomerulonefritis(15).

V.B ANTECEDENTES SOBRE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE LOS ESTREPTOCOCOS β HEMOLITICOS.

V.B.1 RESISTENCIA A PENICILINA

A finales de los años setenta aparecieron los primeros reportes sobre fracasos en la erradicación de estreptococos en vías respiratorias altas con el uso de penicilina. Desde entonces las tasas de fallo descritas han sido incluso de 30% (9). Producto de la investigación realizada para explicar dicho fenómeno se consideran actualmente tres diferentes hipótesis que se conocen como: *la resistencia tradicional, el efecto de inóculo también conocido como efecto Eagle y el fenómeno de tolerancia.*(6).

La **resistencia tradicional** -que corresponde a la aquí investigada- se entiende como aquella en la cual la cepa se muestra resistente a la acción de un antibiótico en los diferentes test que miden la susceptibilidad antibiótica in vitro. Los datos existentes en los últimos 20 años sugieren que *a pesar de que han transcurrido más de 40 años de empleo de penicilina para tratar infecciones por estreptococos del grupo A en seres humanos, no se ha producido un cambio importante en la susceptibilidad in vitro a dicho antimicrobiano* (6,9). De hecho en muestras obtenidas de seres humanos no se han documentado estreptococos beta hemolíticos del grupo A resistentes a la penicilina, aunque en el laboratorio se han producido mutantes con cifras de concentración inhibitoria mínima muy elevadas para dicho antibiótico (6,9) En concordancia con lo anterior varios estudios han documentado una extraordinaria sensibilidad de los estreptococos a la penicilina, tal y como aparecen en la siguiente tabla:

Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) descrita en series previamente publicadas de Estreptococo Beta Hemolítico

Institución	Año	Número de cepas estudiadas	CIM registrada en $\mu\text{g/ml}$
Boston City Hospital(6)	1976	29	0.01 o menos
Children's of Philadelphia(6)	1982	132	0.05 o menos
Oklahoma Children's Hospital (6)	1980	474	0.03 o menos
Militares de USA en Japón y civiles de este país(6)	1990	104	0.06 o menos
Centro para la referencia e investigación del Estreptococo (Minneapolis) y Organización Mundial de la Salud(9)	1989-1992	300	0.012

Como se mencionó, la sensibilidad de los mutantes puede diferir de la cepa madre, tal y como ha ocurrido al inducir el proceso de mutación con etilmetanosulfonato. En un estudio de este tipo los valores de CIM de la cepa inicial fueron de 0.006 $\mu\text{g/ml}$ aumentando a 0.2 $\mu\text{g/ml}$ en los mutantes (6).

Es importante recalcar que *estreptococo beta hemolítico no produce beta-lactamasa*. De modo que en la actualidad se piensa

que la resistencia obedece a una alteración en las proteínas ligadoras de penicilina *-peptidoglicanos-transpeptidasas y carboxipeptidasas de la pared bacteriana a las cuales el antibiótico en cuestión se une de forma covalente-*, ya que tales enzimas registran menor concentración o menor afinidad por la penicilina(6).

Un aspecto interesante es el fenómeno de que a pesar del uso de penicilina no ha ocurrido de manera natural una inducción de cepas mutantes, principalmente cuando se considera la facilidad con que tal inducción ocurre en el laboratorio. Al parecer lo anterior se explica puesto que los mutantes, si bien alteran las proteínas ligadoras de penicilina, también tienden a perder la proteína M, factor importante de virulencia descrito al inicio de la revisión bibliográfica y que se sabe ayuda a burlar a los fagocitos(6,10)

El efecto del inóculo también denominado **Efecto Eagle** se refiere al fenómeno observado respecto a la disminución de la efectividad de la penicilina conforme aumenta el número de microorganismos en un tejido infectado. Esto parece explicarse porque conforme la población bacteriana se acerca a una cifra "estable", los microorganismos ya no se multiplican ni metabolizan tan activamente siendo por consiguiente menos susceptibles a los efectos de la penicilina(6).

El fenómeno de **tolerancia** se refiere a la menor capacidad bactericida por parte de las concentraciones de penicilina que inhiben el crecimiento. Dicha tolerancia suele demostrarse in vitro por enormes diferencias (generalmente arriba de 32 tantos) entre la concentración bactericida mínima y la inhibitoria mínima. Es importante mencionar que aún no se define la importancia clínica de la tolerancia, mas cuando varios estudios han sido realizados con cepas en fase estacionaria, lo cual -como se mencionó en el párrafo anterior- puede de por sí, disminuir la efectividad de la penicilina(6).

Desde el punto de vista epidemiológico los esfuerzos previamente realizados en Guatemala para definir el patrón de resistencia, han documentado por el método de Bauer Kirby y por seguimiento clínico una susceptibilidad a la penicilina G de 100% (1,7).

En adición a los anteriores datos que se refieren sobre todo a *Estreptococo Beta Hemolítico del grupo A*, la literatura consultada en relación a los del grupo B *-el segundo grupo serológico más importante de los beta hemolíticos-* evidencia que si bien se ha registrado resistencia a gentamicina y susceptibilidad intermedia para eritromicina, clindamicina y cefoxitina, no ocurrió resistencia para la penicilina (14). Un estudio publicado en 1994 en España registró sensibilidad intermedia a la penicilina en 2 cepas (9).

Los estudios realizados para determinar la CIM en *Estreptococos* de los grupos C y G han documentado valores más altos que para el grupo A, no obstante, ninguna cepa ha sido catalogada como resistente (9).

RESISTENCIA A ERITROMICINA

La primera referencia sobre resistencia de *Estreptococo Beta Hemolítico del grupo A* a Eritromicina data de 1958 (6). Desde entonces se han documentado brotes epidémicos en varias partes del mundo y la Organización Mundial de la Salud sostiene que en la mayoría de los países, menos del 5% de tales cepas son resistentes al macrólido en cuestión(9). Probablemente Japón ha sido uno de los más afectados, como puede deducirse del incremento de resistencia desde 2% en 1971 a un alarmante 52% en 1974(6,9). Un aspecto importante lo constituye la correlación existente entre las tasas de resistencia y la producción, así como su prescripción al usuario. Esta situación se demostró en el mismo Japón, puesto que entre 1972-1976 la cantidad de producción aumentó elevando la resistencia y esta última descendió cuando así lo hizo la primera.

Otros datos con los cuales se cuenta sobre las tasas de resistencia son las siguientes: Japón, 1974-5, 62 %; Suecia, 1984-5, 49 %; Suecia, 1987, 5.9 %; Escocia, 1988, 23 %; Inglaterra, 1987, 15-20 %; Inglaterra, 1989-90, 2.5-3.3 %; España, 1987-92, 1.3-5 %; Israel, 1992, 1.3 %; Finlandia, 1988-90, 16-24 %; Canadá, 1968, 0.24%; Canadá, 1972, 1.4 %; USA, 1980, 4.3-5%; 1989-92, 3.5 %; Hawai, 1988-89, 3.7 %.(6,9) En Guatemala hacia 1983 se describió un 2% de cepas resistentes utilizando el método de Bauer Kirby(7).

En cuanto a la información correspondiente a estreptococo del grupo B, se han registrado concentraciones inhibitorias mínimas que los catalogan como de sensibilidad intermedia hasta en 15% de 156 cepas (9).

En cuanto a la información correspondiente a los Estreptococos del grupo B se han registrado concentraciones inhibitorias mínimas que los catalogan como de sensibilidad intermedia hasta en 15% de 156 cepas (9).

Se desconocen los mecanismos moleculares por los que los estreptococos beta hemolíticos desarrollan resistencia a la eritromicina. Muchas bacterias producen una enzima que metila el sitio específico en el ribosoma bacteriano al que se une la eritromicina y así protege al microorganismo. Sin embargo, debe sumarse a la anterior explicación la aparente existencia de plásmidos transmitibles por transfusión y conjugación entre bacterias (6,11)

RESISTENCIA OTROS ANTIBIOTICOS:

La literatura existente sostiene que no parece haber resistencia de Estreptococo Beta Hemolítico del grupo A a las cefalosporinas. No así a clindamicina, trimetroprim-sulfametoxazole y tetraciclinas para los cuales varios estudios documentan grados variables de resistencia (2, 6,7,9,11).

V.C INFORMACION SOBRE E-TEST

El E-test es un método que determina la concentración inhibitoria mínima (CIM) de un antibiótico a una bacteria. Corresponde a un método de difusión en el cual un agente antimicrobiano contenido en una pequeña banda o tira se difunde hacia el agar en que se ha cultivado una cepa bacteriana objeto de estudio.

La caja de Petri que contiene el agar, la cepa y las bandas reactivas han de incubarse bajo ciertos requerimientos característicos de atmósfera, temperatura y tiempo entre otras.

Las determinaciones cuantitativas de la CIM se calculan determinando el punto más bajo de la banda de gradientes que inhibe el crecimiento bacteriano, observándose como una zona elíptica.

La intersección entre el valor impreso en la banda y la zona de inhibición es registrada como la CIM(11).

Un estudio reciente demostró la superioridad de este método para determinar la CIM en comparación con otros métodos(2).

Un limitante importante lo constituye el costo (véase la sección de materiales).

VI. Material y Método

Tipo de estudio

Observacional - Descriptivo

Objeto de estudio

Cepas de *Streptococo Beta Hemolítico*

Tamaño de la muestra

Cincuenta cepas de *Streptococo Beta Hemolítico* fueron al final consideradas para análisis de un total de 75 obtenidas en 4 laboratorios microbiológicos de la iniciativa privada y 3 gubernamentales.

El periodo de recolección se inició en noviembre de 1997 y finalizó en marzo de 1998.

El número de cepas fue previamente fijado en forma arbitraria, obedeciendo a tres elementos: 1. *Poca demanda de cultivos de garganta* 2. *Bajo porcentaje de aislamiento en dichos cultivos* y 3. *Alto costo del estudio*.

Criterios de Inclusión

- Cepa reportada como *Streptococo β-hemolítico* por el laboratorio de donde se obtiene la muestra
- Cepa corroborada como *Streptococo β-hemolítico* por los investigadores
- Cepa cultivada durante los meses noviembre-diciembre 1997 y enero-marzo 1998

Criterios de Exclusión

- Cepa que no se confirme como *Streptococo β-hemolítico*

Marco del muestreo

Laboratorios microbiológicos gubernamentales y privados localizados en la ciudad de Guatemala de donde se obtuvieron las cepas.

Variables

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Medida
Estreptococo β -Hemolítico	Cocos gram positivo que en virtud de poseer hemolisinas, al ser sembrados en medio agar sanre de carnero exhiben un halo claro alrededor de las colonias por hemólisis completa de los eritrocitos depositados en el medio.(10).	Colonias de 0.5-2mm de diámetro grisáceas que en agar sangre de carnero exhiben un halo completamente claro alrededor de ellas. (8.10)	<ul style="list-style-type: none"> Grupo A de Lancefield (Taxo A positivos) No del Grupo A de Lancefield (Taxo A negativo) (15)
Concentración Inhibitoria Mínima	Medida de la concentración de un antibiótico necesaria para inhibir la proliferación de un inóculo estandarizado en condiciones definidas.(11)	Medición del halo claro de la colonia sembrada en el medio de cultivo hasta el valor respectivo para cada tira de E-test examinada.(11)	Registrada en Microgramos por mililitro ($\mu\text{g/ml}$) (8)
Antibiótico	Substancia natural producida por un organismo para matar o inhibir el crecimiento de un microorganismo. Existen también antibióticos semisintéticos constituidos por derivados sintéticos de los naturales. (15.17)	Grupo de 3 antibióticos arbitrariamente elegidos por estar catalogados como de primera línea contra los estreptococos β -hemolíticos o juzgarse de uso frecuente por los médicos generales.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Penicilina 2. Amoxicilina 3. Eritromicina
Resistencia antimicrobiana	Condición inherente a un microorganismo que lo hace tolerante a concentraciones de antibiótico superiores a los que pueden obtenerse en la sangre por medio de un régimen usual de dosificación (11).	Registro de una concentración inhibitoria mínima superior a la correspondiente para cada antibiótico según los valores de referencia de la Asociación Americana de Microbiología (8)	Penicilina > 4 $\mu\text{g/ml}$ Amoxicilina >4 $\mu\text{g/ml}$ Eritromicina >8 $\mu\text{g/ml}$ (8)

Recursos

• Económicos

50 tiras de E-test para cada antimicrobiano (150 en total)	Q1931.10
2 frascos de 500 gms de medio de cultivo	Q1000.00
10 frascos de sangre de carnero	Q600.00
1 cartón de 500 cajas desechables de cultivo	Q500.00
1 recipiente para transporte de muestras	Q20.00
1 rollo de maskin tape para transporte de muestras	Q15.00
materiales de laboratorio para realización de pruebas	Q200.00
Fotocopias	Q50.00
Combustible de vehículo para traslado de muestras	Q200.00
Diskettes, tiempo en uso de computadora e impresora láser	Q250.00
Impresión de tesis	Q1000.00
TOTAL GASTOS	Q5,766.00

• Físicos

Bibliotecas *Facultad de Medicina USAC, UFM, INCAP*
 Manuales de Laboratorio *Hospital Universitario Esperanza*
 1 computadora Compaq Presario 1425
 1 Impresora HP Laserjet 4 plus
 1 máquina de escribir
 Utiles de escritorio
 50 cepas de Estreptococo Beta Hemolítico
 Espacio fisico LACCEM

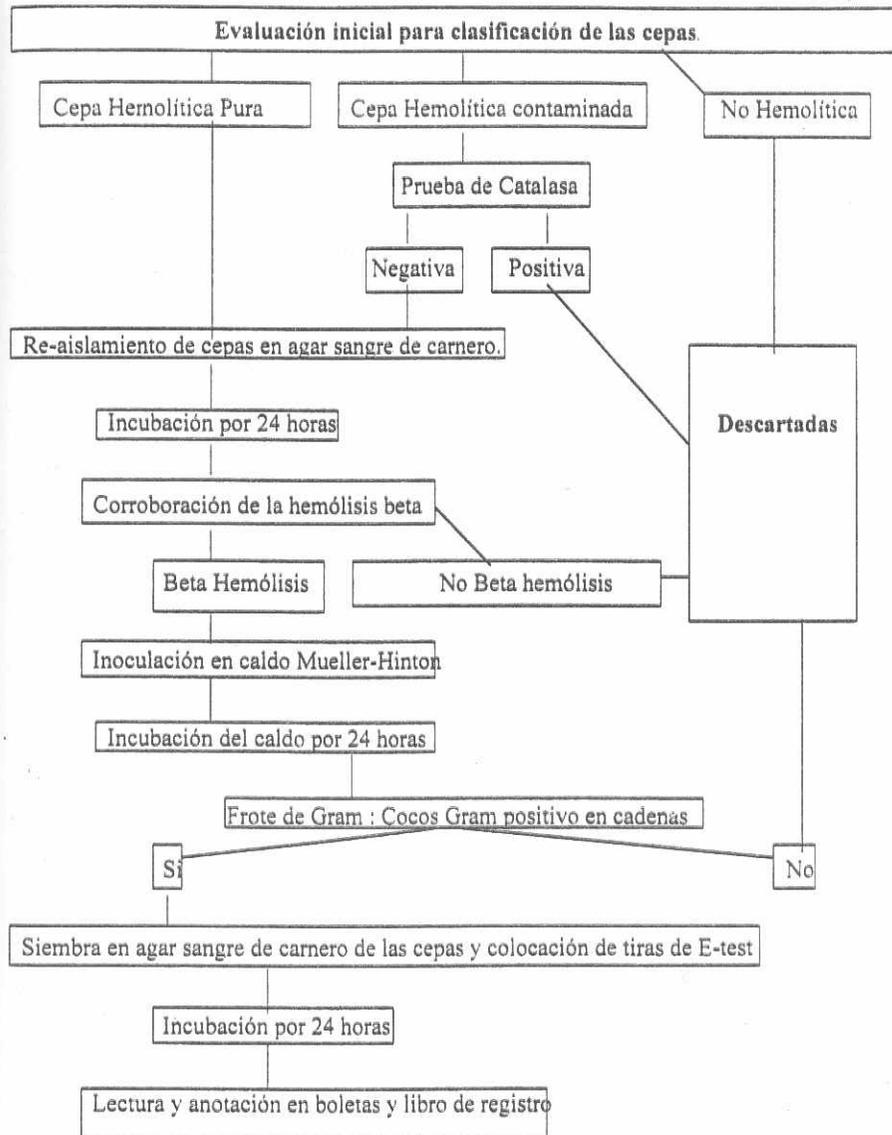
• Humanos

Médicos de acción en el campo microbiológico
 Técnicos de laboratorio

Recopilación de la información

El procedimiento para recopilar la información consistió básicamente en contactar telefónica o personalmente a los encargados de los laboratorios de Microbiología antes mencionados. Considerando que las cajas de Petri con tales cepas *constituyen finalmente materiales de desecho* para los laboratorios, la recolección no significó para ellos un gasto monetario.

Las cepas fueron trasladadas al Laboratorio Clínico y Centro Microbiológico (LACCEM) (12 Av 13-18 A Zona 1) donde se efectuó el protocolo que aparece en la página siguiente :



VII. PRESENTACION DE RESULTADOS

Cuadro 1

Distribución de cincuenta cepas de *Estreptococo Beta Hemolítico* según su clasificación de Lancefield.
Ciudad de Guatemala Noviembre 97 - Marzo 98.

Clasificación de Lancefield	Frecuencia	Porcentaje
Grupo A	10	20%
No del Grupo A	40	80%
Total	50	100%

Fuente: Boletas de Recolección de Datos del Estudio.

Cuadro 2

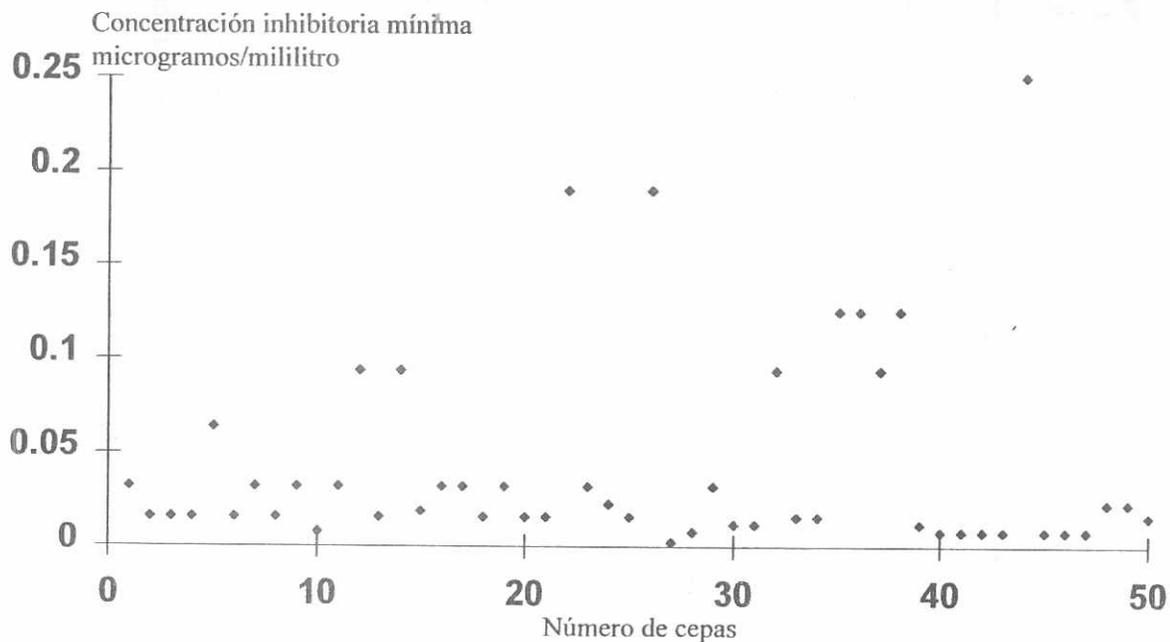
Distribución de cincuenta cepas de *Estreptococo Beta Hemolítico* según su resistencia a tres antimicrobianos.
Ciudad de Guatemala Noviembre 97 - Marzo 98

Antimicrobiano	Clasificación según nivel de CIM				Total
	Susceptible	Moderadamente susceptible	Susceptibilidad Intermedia	Resistente	
Penicilina	49	1	0	0	50
Amoxicilina	41	9	0	0	50
Eritromicina	44	0	6	0	50

Fuente: Boletas de Recolección de Datos del Estudio

Grafica 1

Determinación de concentración inhibitoria mínima para Penicilina en cincuenta cepas de Estreptococo Beta Hemolítico recopiladas en varios laboratorios microbiológicos. Ciudad de Guatemala, Nov 97 - Marzo 98

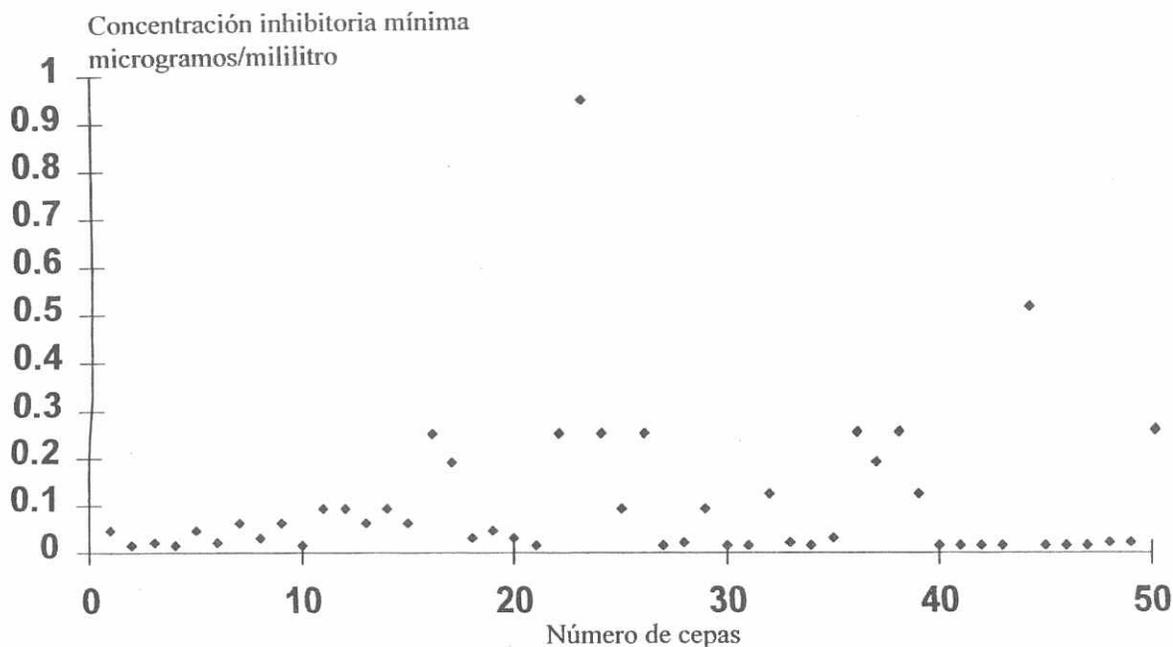


Nótese que ninguna de las 50 cepas registró valores arriba de 4 mcg/ml que delimita susceptibilidad/resistencia.

30

Grafica 2

Determinación de concentración inhibitoria mínima para Amoxicilina en cincuenta cepas de Estreptococo Beta Hemolítico recopiladas en varios laboratorios microbiológicos. Ciudad de Guatemala, Nov 97 - Marzo 98

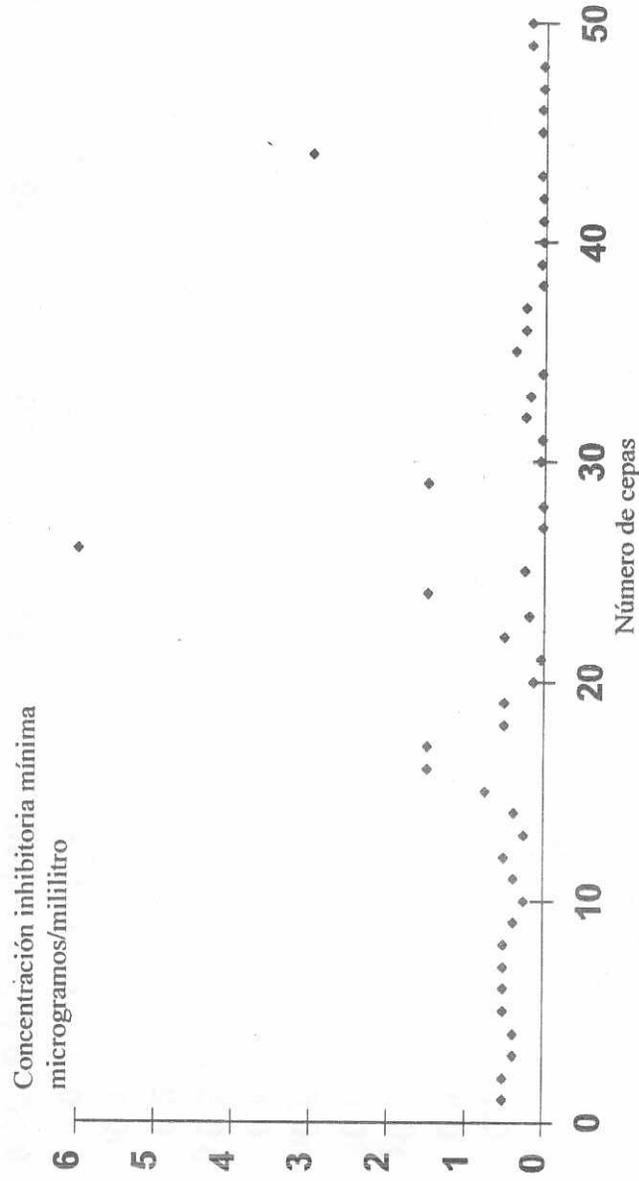


Nótese que ninguna de las 50 cepas registró valores arriba de 4 mcg/ml que delimita susceptibilidad/resistencia.

31

Gráfica 3

Determinación de concentración inhibitoria mínima para Eritromicina en cincuenta cepas de Estreptococo Beta Hemolítico recopiladas en varios laboratorios microbiológicos. Ciudad de Guatemala, Nov 97 - Marzo 98



Amoxicilina se incluyó por constituir una alternativa por vía oral ampliamente prescrita en el medio y la Eritromicina por ser la recomendación en casos de conocida alergia a las penicilinas (11).

Los resultados muestran que el 80% de las cepas no pertenecieron al grupo A. La distribución de las mediciones de la concentración inhibitoria mínima que aparecen en las tres gráficas respectivas demuestran que *ninguna de las cincuenta cepas estudiadas registró concentraciones inhibitorias mínimas que las clasifiquen como resistentes a cualesquiera de los tres antibióticos estudiados*. No obstante, vale la pena enfatizar que de acuerdo a las mediciones obtenidas, una de las 50 cepas evaluadas para Penicilina y 9 en el caso de la Amoxicilina se catalogan como moderadamente susceptibles de acuerdo a los estándares de la Asociación Americana de Microbiología (8). Esta designación implica la necesidad de altas dosis del fármaco cuando se trata de endocarditis o infecciones tisulares invasivas en las cuales puede ser recomendable incluso asociar un aminoglucósido para mejorar la respuesta terapéutica y la acción bactericida(8). En cuanto a Eritromicina, seis de las 50 cepas mostraron una concentración inhibitoria mínima elevada, lo cual si bien no las clasifica como resistentes lo hace como de "susceptibilidad intermedia", aspecto de sumo interés ya que obliga a considerar el uso del macrólido por vía intravenosa (8). Lo anterior difiere con dos reportes guatemaltecos que encontraron un 2% de cepas resistentes (7). Es difícil afirmar si tal diferencia obedece a diferentes épocas o diferentes métodos para determinar la sensibilidad de las bacterias (Bauer Kirby vrs. E-test).

En síntesis puede anotarse que no se encontraron cepas resistentes a Penicilina, Amoxicilina ni Eritromicina.

Aunque a simple vista el número de cepas parece pequeño, es importante mencionar que series similares realizadas en hospitales de otras grandes ciudades no difieren gran cosa en el tamaño, si bien los resultados son específicamente referidos a *Streptococo* del grupo A (6,9).

La confianza en los resultados aquí presentados se deducen de estudios recientes realizados para determinar la superioridad del E-test como método de sensibilidad antibiótica sobre otros que también miden concentraciones inhibitorias mínimas.

Se considera que los datos obtenidos revisten especial importancia dada la frecuencia con que el médico guatemalteco enfrenta condiciones patológicas ocasionadas por *Streptococo* Beta Hemolítico sea o no del grupo A (faringitis, celulitis, impétigo, erisipelas, etc.). Así, en forma similar a los trabajos de vigilancia epidemiológica se documentó que el *Streptococo* Beta Hemolítico en el país, aún persisten con marcada susceptibilidad a los antibióticos Penicilina, Amoxicilina y Eritromicina tal como en el pasado fue determinado por el método de Bauer Kirby(7). Por lo anterior puede afirmarse que en nuestro medio tales antibióticos constituyen una buena elección, no obstante, vale la pena analizar la mayor predisposición de Eritromicina para generar resistencia conforme su uso aumenta -según se deduce de análisis epidemiológicos que demuestran como su incremento en el uso ha generado brotes epidémicos en Finlandia y Japón-(6,14,17).

Por ello se considera pertinente la recomendación de la Organización Mundial de la Salud en el sentido de mantener una vigilancia sobre los patrones de resistencia bacteriana en general(14).

IX. CONCLUSIONES

- Ninguna cepa de *Streptococcus* Beta Hemolítico fue encontrada resistente a los antibióticos Penicilina, Amoxicilina o Eritromicina.
- Cuando se realizan estudios de Concentración Inhibitoria Mínima debe tenerse presente que el registro de valores elevados de ésta -aún en el rango de no resistencia-, llevan implícitas recomendaciones de asociación de aminoglucósidos y/o administración parenteral para mejorar la respuesta terapéutica.

X. RECOMENDACIONES

- Considerar a los antibióticos Penicilina y Amoxicilina adecuados para el tratamiento de infecciones ocasionadas por *Streptococcus* Beta Hemolítico.
- Considerar a la Eritromicina un antibiótico adecuado para el tratamiento de infecciones ocasionadas por *Streptococcus* Beta Hemolítico cuando existe en el paciente alergia a la Penicilina.
- Tener en mente que el uso frecuente de Eritromicina parece generar con mayor facilidad resistencia, haciéndolo también en forma cruzada para otros macrólidos(6,9)
- Difundir los resultados aquí obtenidos a los médicos guatemaltecos para proporcionarles datos propios que refuercen la toma de decisiones al enfrentar al paciente.
- Realizar periódicamente investigaciones similares para mantener actualizado el conocimiento guatemalteco del patrón de resistencia bacteriana.

XI. RESUMEN

Con el fin de determinar la susceptibilidad a los antibióticos Penicilina, Amoxicilina y Eritromicina de Estreptococos Beta Hemolíticos en la Ciudad de Guatemala, se evaluaron cincuenta cepas obtenidas de 7 diferentes laboratorios microbiológicos pertenecientes algunos a la iniciativa privada y otros a instituciones gubernamentales prestadoras de servicios de salud. La susceptibilidad fue **determinada por medición de la concentración inhibitoria mínima (CIM)** según método E-test y los resultados clasificados de acuerdo a los estándares de la Asociación Americana de Microbiología. El menor valor de concentración inhibitoria mínima documentada para Penicilina fue de 0.002 $\mu\text{m/ml}$ y el máximo 0.25 $\mu\text{m/ml}$ con una moda de 0.016 $\mu\text{m/ml}$. El menor valor de CIM documentada para Amoxicilina fue de 0.016 $\mu\text{m/ml}$ y el máximo 1 $\mu\text{m/ml}$ con una moda de 0.016 $\mu\text{m/ml}$. El menor valor de CIM documentada para Eritromicina fue de 0.032 $\mu\text{m/ml}$ y el máximo 6 $\mu\text{m/ml}$ con una moda de 0.50 $\mu\text{m/ml}$. En conclusión ninguna cepa de Estreptococo Beta Hemolítico fue resistente a los antibióticos Penicilina, Amoxicilina o Eritromicina, por lo que se recomiendan como de primera línea para el tratamiento de las infecciones ocasionadas por tales bacterias.

XII. Referencias

1. Agreda Godínez, César Augusto. *Estudio del manejo clínico de la orofaringitis y amigdalitis y su tratamiento en nuestro medio*. USAC (Tesis Medico y Cirujano), Guatemala Agosto 1977.
2. Appelbaum PC., Spangler SK., Cohen M., Jacobs MR. *Comparison of the E-test and conventional agar dilution methods for susceptibility testing of gram negative anaerobic rods*. Diagn Microbiol Infect Dis 1994 Jan; 18(1)25-30.
3. Asselt GJ, Sloos JH, Mouton RP, Van Boven PA, Van de Klundert JAM; *Susceptibility of streptococcus pyogenes to azithromycin, clarithromycin, erithromycin and roxithromycin in vitro*; J Med Microbiol; vol 43(1995):386-91.
4. Clark RB., Giger O., Mortensen JE. *Comparison of susceptibility test methods to detect penicilin-resistant Streptococcus pneumoniae*. Diagn Microbiol Infect Dis 1993 Oct; 17(3)213-7.
5. Cordon R., Carlos R. *"E Test en 100 cepas gram negativas de pacientes del Hospital Roosevelt" (Metodo de sensibilidad antibiotica)* Universidad Francisco Marroquin (Tesis Medico y Cirujano), Guatemala Nov 1996.
6. Gerber Michael. *Antibiotic resistance in group A streptococci*. Pediatr Clin North Am 1995;42:539-51

7. González Camargo, César Leonel. *Patrones de resistencia a los antibióticos en Guatemala*. Memorias VI Congreso Centroamericano y II Congreso Nacional de Microbiología. Guatemala, C.A. Dic 1983 B-29
8. Isenberg Henry D. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. American Society for Microbiology, New York, USA, 1992. Vol 1 Pag 5.2.1
9. Kaplan Edward. *Recent evaluation of antimicrobial resistance in β -Hemolytic Streptococci*. Clinical Infectious Diseases 1997;24(Suppl 1):589-92
10. Kingsbury David & Wagner Gerald. *Microbiology (The National Medical Series for Independent Study)*, 2nd., Harwal Publishing Company, Pennsylvania, USA., 1990. 436p.
11. Mandell G., Bennett J and Dolin R. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 4th., Churchill-Livingstone, NY, USA, 1995.
12. O'Brien Thomas. *The global epidemic nature of antimicrobial resistance and the Need to Monitor and Manage it Locally*. Clinical Infectious Diseases 1997;24(Suppl 1):S2-S7
13. Paredes LS; *Seguimiento Clínico-Microbiológico del tiempo de resolución de faringitis estreptocócica aguda en pacientes pediátricos tratados con antibióticos por vía oral*; Tesis (Médico y Cirujano), Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina, 1991.

14. Tice AD, Schwartz LE; *Streptococcal pharyngitis* FROM Conn's Current Therapy 1997; WB Sauderns; USA; 1997
15. Torres Rubín, Miguel Francisco. *Manual Práctico de Bacteriología Médica*, 1a., Pfizer (Serviprensa), Guatemala, 1996. 229p.
16. Sik Kim K, Kaplan EL; *Association of penicillin tolerance with failure to eradicate group A streptococci from patient with pharyngitis*; J Pediat; noviembre 1985.



BOLETA DE RECOLECCION DE DATOS
ESTUDIO RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DEL ESTREPTOCOCO BETA
HEMOLITICO EN LA CIUDAD DE GUATEMALA.
Br. Dinora Eugenia Fuentes Morales.

- Cepa Número _____ Fecha _____
- Número de registro LACCEM _____

Instrucciones: Con un marcador fluorescente llene los cuadros que vaya implementando.
Se enfatiza que deje sin llenar aquellos que no realice.

