



**UNIVERSIDAD ANDINA SIMON BOLIVAR**

**SEDE CENTRAL**

**Sucre – Bolivia**

**PROGRAMA DE MAESTRIA EN  
“ANALISIS CLÍNICOS – IV VERSION”**

**“EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA INMUNOCROMATOGRÁFICA STREP  
AIM GERMAINE PARA EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE *S. PYOGENES* EN  
PACIENTES CON FARINGITIS QUE ASISTEN AL LABORATORIO  
CLÍNICO DEL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO. POTOSÍ-BOLIVIA.  
ENERO A MAYO DE 2014.”**

**Tesis presentada para obtener el  
Grado Académico de Magister en  
“Análisis Clínicos”**

**MAESTRANTE:** Jorge Rodríguez Flores

Potosí – Bolivia

2014



**UNIVERSIDAD ANDINA SIMON BOLIVAR**

**SEDE CENTRAL**

**Sucre – Bolivia**

**PROGRAMA DE MAESTRIA EN  
“ANALISIS CLÍNICOS – IV VERSION”**

**“EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA INMUNOCROMATOGRÁFICA STREP  
AIM GERMAINE PARA EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE *S. PYOGENES* EN  
PACIENTES CON FARINGITIS QUE ASISTEN AL LABORATORIO  
CLÍNICO DEL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO. POTOSÍ-BOLIVIA.  
ENERO A MAYO DE 2014.”**

**Tesis presentada para obtener el  
Grado Académico de Magister en  
“Análisis Clínicos”**

**MAESTRANTE:** Jorge Rodríguez Flores

Potosí – Bolivia

2014



**UNIVERSIDAD ANDINA SIMON BOLIVAR**

**SEDE CENTRAL**

**Sucre – Bolivia**

**PROGRAMA DE MAESTRIA EN  
“ANALISIS CLÍNICOS – IV VERSION”**

**“EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA INMUNOCROMATOGRÁFICA STREP  
AIM GERMAINE PARA EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE *S. PYOGENES* EN  
PACIENTES CON FARINGITIS QUE ASISTEN AL LABORATORIO  
CLÍNICO DEL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO. POTOSÍ-BOLIVIA.  
ENERO A MAYO DE 2014.”**

**Tesis presentada para obtener el  
Grado Académico de Magister en  
“Análisis Clínicos”**

**MAESTRANTE:** Jorge Rodríguez Flores

**TUTOR:** Dra. María Teresa Ulloa Flores

Potosí – Bolivia

2014

Dedicatoria:

A mi querido padre y mentor, que me enseñó todo en la vida y al que le debo mis logros, aunque se adelanto, sigue guiando mis pasos desde el cielo... para mi viejo Jorge.

Agradecimientos:

A Dios por sus bendiciones y darme la oportunidad de estar aquí.

A mi madre, que con su apoyo constante me impulso a seguir mis sueños para ir alcanzando mis metas.

A mi esposa e hijas por su apoyo y paciencia, que a su manera me brindaron su respaldo incondicional.

A la Dra. María Teresa Ulloa, quien ilumino mis pasos, compartiendo sus enseñanzas y guiándome acertadamente en la realización de esta tesis, y a la cual le debo mi continuo interés y fascinación por la Microbiología.

A los docentes de la Maestría en Análisis Clínicos que con sus enseñanzas y consejos abrieron las puertas de un mundo de ciencia y conocimientos.

Al personal del Laboratorio del Seguro Social Universitario de Potosí, a las autoridades de la misma institución.

A todos los amigos y compañeros que a su manera colaboraron en la realización del presente trabajo.

## RESUMEN

Debido a que las infecciones respiratorias son las más frecuentes y representan un gran porcentaje de consultas médicas en nuestro medio, se propone esta alternativa de método diagnóstico, puesto que en los laboratorios de Bacteriología Clínica, se utiliza el cultivo como único recurso para el diagnóstico laboratorial de la faringitis y faringoamigdalitis Estreptocócica, cuyos resultados se obtienen entre las 48 a 72 horas.

El presente estudio evaluó la eficacia de la prueba rápida inmunocromatográfica (Strep Aim Germaine) ®, para el diagnóstico laboratorial de *Streptococcus pyogenes* beta hemolítico en pacientes con diagnóstico clínico de faringoamigdalitis, frente al agar sangre, como prueba de referencia (gold estándar).

Se realizó un estudio longitudinal y prospectivo en 85 frotis faríngeo de pacientes que acuden al laboratorio clínico del Seguro Social Universitario de Potosí, durante los meses de enero a mayo del 2014.

Se encontró en los pacientes pediátricos una prevalencia de 4,5% y en los adultos de 14,3% siendo la prevalencia de todo el universo de estudio el 10,2%.

Los resultados revelaron que la prueba rápida inmunocromatográfica (Strep Aim Germaine) ® presentó una sensibilidad del 88,89 % y una especificidad del 100 %, con un valor predictivo positivo del 100 % y valor predictivo negativo del 98,7 %. 100 % de especificidad, con referencia al *gold estándar* de cultivo en agar sangre. La prueba inmunocromatográfica (Strep Aim Germaine) ®, es una técnica rápida, con resultados en 10 minutos, y de fácil ejecución que puede ser implementada en cualquier laboratorio de rutina.

**Palabras clave:** *Streptococcus pyogenes*, faringoamigdalitis, inmunocromatografía, beta hemolítico, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo.

## ABSTRACT

Because respiratory infections are the most common, accounting for a large percentage of medical consultations in our environment, this alternative diagnostic method is proposed, as in the laboratories of Clinical Bacteriology, culture and unique resource for the laboratory diagnosis is used faringoamigadlitis of streptococcal pharyngitis and whose results are obtained between 48-72 hours.

This study evaluated the efficacy of rapid immunochromatographic test Germaine (Strep Aim Germaine) ® laboratory diagnosis of beta hemolytic *Streptococcus pyogenes* in patients with clinical diagnosis of pharyngitis, compared with blood agar, as the reference test (gold standart).

A study was conducted to design diagnostic, longitudinal and prospective tests 85 throat swab samples of patients attending the Clinical Laboratory Social Security Universitario de Potosi, during the months of January to May 2014.

Was found in pediatric patients, the prevalence of 4.5% in adults and 14.3% with the prevalence of the whole universe of study 10.2%.

The results revealed that the rapid immunochromatographic test (Strep Aim Germaine) ® had a sensitivity of 88.89% and a specificity of 100%, with a positive predictive value of 100% and negative predictive value of 98.7%. 100% specificity with reference to the gold standard for blood agar culture. The immunochromatographic test (Strep Aim Germaine) ®, is a rapid technique with results in 10 minutes, easy to implement and can be implemented in any routine laboratory.

**Keywords:** *Streptococcus pyogenes*, pharyngitis, immunochromatography, beta hemolytic, positive predictive value, negative predictive value.

## TABLA DE CONTENIDOS

	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. ANTECEDENTES.....	2
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	4
1.4. OBJETIVOS.....	6
1.4.1. OBJETIVO GENERAL.....	6
1.4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	6
2. MARCOTEORICO Y CONTEXTUAL.....	7
2.1. MARCO TEORICO.....	7
2.1.1. FARINGITIS AGUDA.....	7
2.1.2. FARINGOAMIGDALITIS AGUDA.....	7
2.1.3. <i>STREPTOCOCCUS PYOGENES</i> .....	8
2.1.4. PRODUCTOS EXTRACELULARES.....	10
2.1.5. SIGNOS Y SINTOMAS.....	11
2.1.6. MANIFESTACIONES CLINICAS.....	11
2.1.7. DIAGNOSTICO.....	12
2.1.8. COMPLICACIONES.....	13
2.1.9. TRATAMIENTO.....	14
2.1.10. ESTADO DE PORTADOR, FRACASO DE TRATAMIENTO Y REINFECCION.....	16
2.2. HIPOTESIS.....	17
2.3. MARCO CONTEXTUAL.....	17
2.3.1. HISTORIA DE POTOSÍ.....	18
2.3.2. CREACION Y FUNDACION DEL DEPARTAMENTO.....	18
2.3.3. FIESTA DEPARTAMENTAL.....	19
2.3.4. SUPERFICIE DEPARTAMENTAL.....	19
2.3.5. LÍMITES.....	19
2.3.6. ASPECTO SOCIOECONOMICO.....	19
2.3.7. ASPECTO CLIMATICO.....	20

2.3.8. HISTORIA DEL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO POTOSI.....	20
3. MARCO METODOLÓGICO.....	22
3.1. ENFOQUE, TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	22
3.1.1. ENFOQUE.....	22
3.2. POBLACION Y MUESTRA.....	23
3.2.1. POBLACION.....	23
3.2.2. MUESTRA.....	23
3.3. VARIABLES DE ESTUDIO.....	23
3.3.1. IDENTIFICACION DE VARIABLES.....	23
3.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	26
3.4.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	26
3.4.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	26
3.5. PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.....	26
3.5.1. FUENTE DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.....	26
3.5.2. DESCRIPCIÓN DE LOS INSTRUMENTOS DE RECOJO DE INFORMACIÓN QUE FUERON UTILIZADOS.....	26
3.6. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	27
3.6.1. MATERIALES.....	27
3.6.2. EQUIPOS.....	27
3.6.3. REACTIVOS.....	27
3.7. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....	29
3.7.1. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO.....	30
3.7.2. TOMA DE MUESTRA.....	30
3.7.3. SIEMBRA.....	31
3.7.4. IDENTIFICACIÓN DE <i>STREPTOCOCCUS</i> AISLADOS.....	32
3.7.5. PROCEDIMIENTO PARA EL TEST RÁPIDO CUALITATIVO PARA DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE <i>STREPTOCOCCUS</i> DEL GRUPO “A”.....	34
3.7.6. PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN DEL ANTIBIOGRAMA KIRBY – BAUER MODIFICADO EN AGAR	

MUELLER HINTON CON SANGRE AL 5% PARA <i>STREPTOCOCCUS PYOGENES</i> .....	36
3.8. INSTRUMENTOS Y TÉCNICAS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.....	37
3.9. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	37
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
4.1. RESULTADOS.....	38
4.1.1. RESULTADOS DESCRIPTIVOS.....	38
4.1.2. RESULTADOS ANÁLITICOS.....	44
4.1.3. RESULTADOS DE ASOCIACIÓN.....	48
4.2. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	50
4.3. CONCLUSIONES.....	53
4.4. RECOMENDACIONES.....	54
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
ANEXOS.....	59

## TABLA DE ANEXOS

	Página
Anexo 1: FORMULARIO DE REGISTRO N° 1.....	60
Anexo 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	61
Anexo 3: PREPARACION DE AGAR SANGRE CON SANGRE HUMANA.....	62
Anexo 4: PREPARACION DE AGAR MUELLER HINTON CON SANGRE HUMANA AL 5%.....	63
Anexo 5: TINCION DE GRAM.....	64
Anexo 6: HEMOLISIS OBTENIDA EN EL AGAR SANGRE EN EL CULTIVO DE <i>S. PYOGENES</i> .....	66
Anexo 7: PRUEBA DE LA CATALASA.....	67
Anexo 8: PRUEBA DE LA BACITRACINA.....	68
Anexo 9: PRUEBA DE PYR.....	69
Anexo 10: PRUEBA RAPIDA DE INMUNOCROMATOLOGRAFIA STREP AIM GERMAINE.....	70
Anexo 11: EQUIPOS UTILIZADOS.....	71

## CAPITULO I

### INTRODUCCION.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en la actualidad, uno de los mayores problemas de Salud Pública en el mundo, es la elevada prevalencia de bacterias causantes de enfermedades humanas y el creciente número de bacterias resistentes a los antimicrobianos.

Las infecciones del tracto respiratorio son las más frecuentes y se caracterizan por producir una elevada mortalidad al ser un punto de encuentro entre el ser humano interno y el medio exterior, lo que motivan numerosas consultas médicas y ocasionan una gran parte de las prescripciones de antimicrobianos.

La faringitis y faringoamigdalitis, son los motivos asistenciales más frecuentes de las consultas médicas en la atención primaria en varios países tanto europeos como en América latina, y una de las razones más habituales por las cuales se prescribe un antibiótico, a pesar de que sólo un 15-25% de los casos de pacientes adultos obedecen a una infección por estreptococo beta hemolítico del grupo A, o *Streptococcus pyogenes*, la única que requiere tratamiento antimicrobiano. En estos casos, la utilización de antimicrobianos corta la transmisión y la diseminación de este agente en la comunidad, reducen la sintomatología respecto al grupo no tratado en una media de 16 horas y previene las complicaciones supurativas.<sup>1,2,4</sup>

La faringitis, es la inflamación de la mucosa que reviste la faringe. Generalmente le acompañan síntomas como deglución difícil, amígdalas inflamadas y fiebre más o menos elevada. Las posibles causas de la faringitis son las infecciones víricas, infecciones bacterianas o reacciones alérgicas. Los principales agentes causantes bacterianos son *Streptococcus pyogenes* y *Haemophilus influenzae*, entre otros.

La faringoamigdalitis (CIE-10: B00.2) es un término médico que combina faringitis con amigdalitis, tanto bacteriana como viral. Es una de las infecciones más comunes en niños.

Ambas infecciones son muy importantes, son frecuentes en la población pediátrica como también en adolescentes y adultos jóvenes, son más prevalentes en climas fríos y en los períodos de invierno y primavera por lo que en nuestra ciudad de Potosí esta situación se hace más preocupante.

Múltiples agentes virales y bacterianos son capaces de producir faringoamigdalitis y faringitis, la infección se caracteriza por ser generalmente una enfermedad benigna y de curso autolimitado cuando es de etiología viral, pero cuando es de origen bacteriano este suele ser más complejo.<sup>3,4</sup>

### **1.1. ANTECEDENTES**

*Streptococcus pyogenes* beta hemolítico del grupo A es el principal agente etiológico de las faringoamigdalitis y faringitis bacterianas. Motivo por el cual es muy importante un diagnóstico en forma correcta y oportuna, para iniciar un tratamiento adecuado que resuelva el problema, pero principalmente para prevenir las posteriores complicaciones de la infección como lo son las complicaciones supuradas y no supuradas (fiebre reumática, glomerulonefritis).

El cultivo de frotis faríngeo en agar sangre con 5 % sangre es el método estándar de referencia para el aislamiento de *Streptococcus pyogenes* por su elevada sensibilidad y especificidad, a pesar del tiempo que lleva el desarrollo bacteriano de 48 a 72 horas. Sin embargo el realizar la prueba inmunocromatográfica para *S. pyogenes*, resulta ser un aporte mayor para un diagnóstico rápido y por ende realizar el tratamiento adecuado, para evitar reportar resultados erróneos, principalmente resultados falsos negativos, que confunden al médico tratante y pueden llevar a complicaciones de la infección, que en algunos casos son fatales.<sup>4</sup>

Por lo tanto, este estudio tiene el objetivo de encontrar un test rápido para el diagnóstico de *Streptococcus pyogenes*, por lo cual se evaluó la prueba inmunocromatográfica (Strep Aim Germaine) ®, comparándolo con el cultivo agar sangre, para conocer su alcance en cuanto a su sensibilidad, especificidad y valores predictivos, con relación al *gold estándar* que es el cultivo en agar sangre.

Para el uso de agar con sangre humana para el cultivo de *S pyogenes*, se tomó como referencia un estudio realizado en la ciudad de La Paz, en el cual se realizó un estudio para la validación del agar sangre con sangre humana con relación a la de carnero que es el *gold standar* para aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos del grupo "A". En el mencionado estudio se realizó la evaluación de la eficacia del agar sangre de carnero con el agar sangre con sangre humana, donde se encontró que el agar sangre con glóbulos rojos lavados tiene sensibilidad y tasa de verdaderos positivos del 100%, a las 48 horas de incubación, y que el gar sangre con sangre humana alcanza una sensibilidad y tasa de verdaderos positivos de un 98 %, considerándose así un medio de cultivo valido para el aislamiento de *Streptococcus* Beta hemolíticos del grupo "A", al igual que el medio con sangre de carnero.<sup>3,12</sup>

En los últimos años se está generalizando en los países desarrollados la utilización del tests de diagnósticos rápidos para detectar el antígeno de *S. pyogenes* de forma más precisa, recomendable principalmente en los casos en que la clínica es moderada o altamente sugestiva de esta infección. La mayoría de estos tests se basa en la extracción con ácido nitroso del antígeno de carbohidratos del grupo A, a partir de los microorganismos obtenidos del exudado faríngeo. Estas pruebas presentan actualmente una sensibilidad y especificidad superior al 90%, se utilizan en pacientes con dos o más criterios de Centor,( Puntos en garganta, fiebre mayor a 38, ausencia de tos, adenopatía cervical anterior sensible, inflamación y/o exudado amigdalino) y la

calidad de la muestra del exudado faríngeo. Se hallan disponibles diversas marcas de test diagnóstico rápido, pero muchas de ellas son parecidas. Los autores comentan que el procedimiento realizado con el kit OSOM Strep A, que utilizaron en sus consultas desde hace unos años, les resultó útil y práctico para confirmar sus diagnósticos clínicos. En un trabajo reciente efectuado en nuestro país se observó con este kit una sensibilidad del 95% y una especificidad del 93%. El valor predictivo negativo observado, del 98,5%, asegura que el resultado negativo de la prueba descarta con mucha seguridad que el paciente que no presente una faringitis y faringoamigdalitis estreptocócica.<sup>1</sup>

## **1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

¿Cuál será la sensibilidad y especificidad de la técnica Inmunocromatográfica Strep Aim Germaine, para el diagnóstico rápido de *S. pyogenes* con relación al cultivo bacteriológico, en pacientes con faringitis y faringoamigdalitis, que asisten al Laboratorio clínico del Seguro Social Universitario de Potosí 2014?

## **1.3. JUSTIFICACIÓN**

La mejor herramienta diagnóstica de la faringoamigdalitis estreptocócica aun permanece en debate, con diferentes opciones, debido a la magnitud de este problema y a las implicaciones de eficacia y costo.

Las opciones incluyen el diagnóstico clínico sin estudio bacteriológico, el cual tiene una baja especificidad y se corre el riesgo de un tratamiento antimicrobiano inadecuado o innecesario. La confirmación bacteriológica por el cultivo de frotis faríngeo a pesar del tiempo que tarda el desarrollo bacteriano de 48 a 72 horas, es recomendada en diferentes normas y por opiniones de expertos. Pero también se tiene como alternativa las pruebas diagnósticas rápidas que tenían una baja sensibilidad y especificidad.

El cultivo de frotis faríngeo en agar sangre es el método de referencia o patrón de oro (gold standard) para el aislamiento de *Streptococcus pyogenes* por su elevada sensibilidad y especificidad, sin embargo deben cumplirse las condiciones adecuadas para el cultivo ya que estas son bacterias de difícil aislamiento y se deben tomar todas las precauciones para evitar reportar resultados erróneos, principalmente resultados falsos negativos.

Con frecuencia en los centros de salud de nuestra ciudad y del país se ha observado que en los laboratorios de bacteriología clínica, se presentan resultados falsos negativos y además con un tiempo de espera de 48 a 72 horas. Por lo tanto, en esta investigación el objetivo es evaluar otra alternativa, para el diagnóstico de *Streptococcus pyogenes* beta hemolítico, se evaluó la prueba rápida inmunocromatográfica (Strep Aim Germaine) ®, con el fin de establecer la mejor manera de diagnosticar en forma óptima y oportunamente al *Streptococcus pyogenes*, como causante de faringitis o faringoamigdalitis.

La prueba evaluada fue la inmunocromatografía de la marca (Strep Aim Germaine) ®, utilizando el agar sangre como prueba de referencia o patrón de oro (gold standard).

En este sentido la evaluación de la prueba rápida (Strep Aim germaine) ®, permitirá determinar el alcance de su sensibilidad, especificidad y valores predictivos. Conociendo la eficacia de los medios de cultivo, se pretende dar una alternativa confiable que permita introducir este método en el trabajo de rutina del laboratorio de Bacteriología Clínica, y postular como opción más rápida de diagnóstico, y evitar además una espera de 48 a 72 horas.

## **1.4. OBJETIVOS.**

### **1.4.1. Objetivo General.**

Evaluar la sensibilidad, especificidad y los valores predictivo positivo y predictivo negativo de la técnica de detección cualitativa de antígenos de *S. pyogenes* (Strep aim Germaine) ® en secreción faríngea, considerando el cultivo como método de referencia en pacientes con faringitis y faringoamigdalitis del Seguro Social Universitario de Potosí.

### **1.4.2. Objetivos Específicos**

- Determinar la prevalencia de *S. pyogenes* en faringitis o faringoamigdalitis mediante cultivo tradicional en pacientes pediátricos y adultos que asisten al Seguro Social Universitario de Potosí.
- Evaluar la sensibilidad y especificidad de la técnica inmunocromatográfica de detección cualitativa de antígenos de *S. pyogenes*, considerando el cultivo como método de referencia en pacientes con faringitis o faringoamigdalitis.
- Determinar los valores predictivo positivo y negativo de la prueba inmunocromatográfica de *S. pyogenes* en pacientes con faringitis o faringoamigdalitis, del Seguro Social Universitario de Potosí
- Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *S pyogenes* aislados en faringitis o faringoamigdalitis.

## CAPITULO II

### MARCO TEÓRICO CONTEXTUAL

#### 2.1. MARCO TEORICO

##### 2.1.1. Faringitis aguda.

La faringitis aguda es la inflamación de la mucosa que reviste la faringe, generalmente le acompañan síntomas como deglución difícil, amígdalas inflamadas y fiebre más o menos elevada. Las posibles causas de la faringitis son las infecciones víricas, infecciones bacterianas o reacciones alérgicas. Los principales agentes causantes bacterianos son *Streptococcus pyogenes* y otras especies de *Streptococos*.

Es predominantemente una enfermedad de niños entre los 5 y los 15 años de edad. La faringitis por *Streptococo* 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. <sup>1,2,5</sup>

##### 2.1.2 Faringoamigdalitis aguda

La faringoamigdalitis (CIE-10: B00.2) es un término médico que combina faringitis con amigdalitis, tanto bacteriana como viral. Es una de las infecciones más comunes en niños. Representando 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 períodos 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 faringitis y faringoamigdalitis aguda, aunque también puede ser

causada por hongos o chlamydias. Los microorganismos que forman la microbiota 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.<sup>2,4</sup>

### **2.1.3 *Streptococcus pyogenes*.**

*Streptococcus* del grupo A, es una de las bacterias más importantes en patología humana. Este ubicuo organismo es la causa bacteriana más frecuente de faringitis y faringoamigdalitis 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 post estreptocócica.

**Caracteres microbiológicos:** *Streptococcus* del grupo A (*S. pyogenes*) se presentan microscópicamente como células esféricas u ovoides de 0,6 –1,0 um 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, catalasas negativas y, facultativamente anaerobias.<sup>2,3,5</sup>

*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).

**Componentes celulares:** La cápsula es la capa más superficial que envuelve al microorganismo y está compuesta por ácido hialurónico, encontrándola en los microorganismos solamente cuando están cursando enfermedad en el hospedero. Es un factor de virulencia accesorio que dificulta la fagocitosis por los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos del huésped.

**El carbohidrato específico de grupo (carbohidrato C):** está constituido por un dímero de ramnosa y N-acetilglucosamina.

**El mucopéptido (peptidoglicano),** 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.

**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.<sup>4</sup>

**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.

**Las proteínas T y R,** constituyen otro complejo antigénico que no intervienen en la patogenicidad del microorganismo.

**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 poliglicerolfosfato unidas a lípidos podría jugar también un rol en la adherencia, en asociación con proteínas de superficie.

Recientemente se ha descrito una peptidasa unida a la célula que cliva el componente C5 del complemento e inhibe la quimiotaxis de los neutrófilos *in vitro* e *in vivo*.<sup>2,3,5</sup>

#### 2.1.4 Productos extracelulares.

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

**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.

**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 las 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.

**La exotoxina pirogénica estreptocócica,** antes conocida como toxina eritrogénica, es responsable del rash de la fiebre escarlatina. Experimentalmente, esta sustancia exhibe una variedad de otras propiedades toxicas incluyendo pirogenicidad, citotoxicidad y aumento de la susceptibilidad a los efectos letales de la endotoxina. Estos incluyen cuatro enzimas

antigénicamente distintas que participan en la degradación de DNA (DNAsas A, B, C y D)

**Hialuronidasa**, que degrada enzimáticamente al ácido hialurónico del tejido conectivo.

**Estreptoquinasa**, la cual promueve la disolución de coágulos al catalizar la conversión del plasminógeno en plasmina.

**Otros productos extracelulares son:** NADAsas, pretinaza, amilasa y esterasa.D.

### 2.1.5 Signos y síntomas

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

**Faringitis estreptocócica.** 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.<sup>2,5,6,8</sup>

### 2.1.6 Manifestaciones clínicas:

Se presentan 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.<sup>1,4,5,6</sup>

Diagnóstico de faringitis estreptocócica. Score de Centor modificado por McIsaac. Síntomas y signos Puntos, fiebre mayor a 38. Ausencia de tos. Adenopatía cervical anterior sensible. Inflamación y/o exudado amigdalino. Afecta a menores de 5 años.y mayores a 45 años.

### **2.1.7 Diagnóstico.**

Frente a la sospecha clínica, debe realizarse la confirmación etiológica mediante el cultivo faríngeo 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.

Estudiar en 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.y cuando se sospecha difteria.<sup>1,4,5,6.</sup>

### 2.1.8 Complicaciones

Las complicaciones de la faringitis y faringoamigdalitis 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 por ser 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

**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 está 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, como es la presencia de antiestreptolisina "O" (ASTO), 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.<sup>2,5,8</sup>

**Glomerulonefritis difusa aguda:** Es una afección aguda de los glomérulos renales que está caracterizada anatómo-patológicamente por lesiones proliferativas difusas de los glomérulos y clínicamente por edema, hipertensión, hematuria y proteinuria. Es una secuela no supurada de infecciones faríngeas 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 diagnóstico se hace en base a la clínica y a evidencias de infección estreptocócica reciente. Esta última, en base a historia previa de escarlatina, infección faríngea por *S. pyogenes* o por demostración de títulos elevados de Ac antiestreptococcicos.

**b.- Complicaciones sistémicas:** La sepsis y el síndrome de shock tóxico post estreptocócico.

### 2.1.9 Tratamiento.

El curso clínico habitual de los pacientes con faringitis y faringoamigdalitis estreptocócica no complicada, es la resolución de la sintomatología en tres o cuatro días. Los objetivos del tratamiento antimicrobiano son aliviar los signos y síntomas, y evitar las complicaciones supuradas y no supuradas. Sin embargo aun sin tratamiento los pacientes tenderán a la resolución espontánea de su enfermedad, y otro porcentaje de los pacientes con eventos no tratados desarrollará un cuadro de fiebre reumática u otras complicaciones.<sup>2,4,5,11,12</sup>

El tratamiento antimicrobiano está indicado en pacientes con faringoamigdalitis estreptocócica, confirmada por cultivo faríngeo o una prueba rápida positiva para *S. pyogenes*, no se han presentado hasta ahora cepas resistentes a las penicilinas o cefalosporinas, o haber mostrado un aumento en la concentración inhibitoria mínima (CIM) en las últimas décadas, por lo tanto, a pesar de su amplio uso por más de 50 años el tratamiento de elección es la penicilina. La eritromicina o alguno de los nuevos macrólidos es la elección de segunda línea

y de preferencia en pacientes con hipersensibilidad a la penicilina. Sin embargo, existe una tasa de resistencia a macrólidos que está entre 5 y 7%.<sup>2,3,4,13</sup>

En 1974, se aislaron en Japón las primeras cepas resistentes a macrólidos y de ahí han sido descritas ampliamente en la literatura, en la mayoría de las áreas ha permanecido en baja frecuencia de resistencia, pero en países como España y Finlandia ha alcanzado porcentajes superiores a 30%, lo que en varios trabajos se ha correlacionado con un mayor uso de macrólidos. En Japón se redujo el porcentaje de resistencia de 22% en 1981 a 1% en 1990, lo que ha sido atribuido a una disminución del uso de macrólidos durante ese tiempo.

*S. pyogenes* describe dos mecanismos de resistencia a macrólidos: modificación del sitio blanco y eflujo activo.

**Modificación del sitio blanco.** Este mecanismo se produce por la adquisición de un gen *erm* (erythromycin ribosome methylase ) que codifica una enzima que no dimetila un residuo específico de adenina en el 23S rARN, produciendo un cambio conformacional en el ribosoma, que disminuye la afinidad a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B, fármacos químicamente distintos pero con similar mecanismo y sitio de acción. Esta resistencia cruzada se conoce como resistencia fenotípica MLSB y se expresa en forma constitutiva o inducible.

**Eflujo activo.** Este mecanismo se produce por la presencia de un gen *mef* (macrolide efflux) que codifica la síntesis de una bomba que media el eflujo en forma activa dependiente de energía, se activa un sistema de expulsión para que la célula elimine a los macrólidos y exprese su resistencia. Este eflujo activo sólo confiere resistencia a macrólidos, por lo que se conoce como resistencia fenotípica M. Es el mecanismo de resistencia más frecuentemente descrito en *S. pyogenes*.

El tratamiento antibiótico en faringoamigdalitis estreptocócica por antimicrobiano, dosis y duración es el siguiente:

Por vía oral se administra penicilina V:

En niños: 250 mg cada 8–12 horas por 10 días,

En adolescentes y adultos: 250 mg cada 6–8 horas por 10 días o 500 mg/12 horas por 10 días.

Por vía intramuscular se administra penicilina benzatínica:

Penicilina benzatínica de  $1.2 \times 10^6$  U para pacientes con una masa mayor o igual a 27 kg en 1 dosis.

Penicilina benzatínica de  $6 \times 10^5$  U para pacientes con una masa menor a 27 kg en 1 dosis.

Para pacientes con reacciones de hipersensibilidad a la penicilina se administra por vía oral:

Eritromicina estolato 20-40 mg/Kg/día cada 6-12 horas por 10 días.

Eritromicina succinato 40 mg/kg/día cada 6-12 horas por 10 días.

Azitromicina 5 - 15 mg/kg/día cada 24 horas por 5 días.

Claritromicina 15 mg/kg/día cada 12 horas por 10 días.

Cefadroxilo 30 mg/kg/día cada 12 horas por 10 días.

Cefuroximo axetil 20 - 30 mg/kg/día cada 12 horas por 10 días

Cefaclor 20 - 40 mg/kg/día cada 8-12 horas por 10 días.

Cefprozil 15 - 30 mg/kg/día cada 12 horas por 10 días.

Clindamicina 10 - 20 mg/kg/día cada 6-8 horas por 10 días

La amoxicilina puede ser utilizada en lugar de la penicilina oral en niños pequeños debido a su mejor tolerancia y no por ventajas microbiológicas.

#### **2.1.10 Estado de portador, fracaso de tratamiento y reinfección.**

Se entiende por portador, aquel paciente que en forma persistente presenta *S. pyogenes* en su faringe, pero que se encuentra asintomático y sin respuesta inmune correspondiente, no se realiza tratamiento antimicrobiano, en general excepto en casos con antecedentes de fiebre reumática.

Se entiende por fracaso del tratamiento a la persistencia o recurrencia de los síntomas o signos sugerentes de faringoamigdalitis estreptocócica. El fracaso real es la incapacidad de erradicar el *S. pyogenes* responsable del episodio agudo de faringoamigdalitis luego de un tratamiento antibiótico adecuado. La falla en el tratamiento con penicilina se puede atribuir a la presencia de otras bacterias productoras de Beta lactamasas, un incumplimiento del tratamiento, una reinfección desde una fuente cercana o por un diagnóstico erróneo asociado a la portación de *S. pyogenes*.

Los pacientes que presentan múltiples reinfecciones pueden ser portadores crónicos de *S. pyogenes* y su cuadro clínico ser provocado por otra etiología. La amigdalectomía debe ser considerada excepcionalmente y sólo en aquellos pacientes que presentan episodios frecuentes en los que se ha descartado razonablemente una portación crónica de *S. pyogenes*.

## **2.2 HIPÓTESIS**

La técnica inmunocromatográfica (Strep Aim Germaine) ®, para la detección cualitativa de antígenos de *S. pyogenes* en secreción faríngea de pacientes con faringitis y faringoamigdalitis, es un método diagnóstico con sensibilidad y especificidad al menos, similar al cultivo para la detección de los casos de faringitis o faringoamigdalitis por *S pyogenes*

## **2.3 MARCO CONTEXTUAL.**

El estudio se realizó en la ciudad de Potosí de la provincia Tomas Frías del Departamento de Potosí del Estado Plurinacional de Bolivia

### **2.3.1. Historia de Potosí**

El departamento de Potosí, situado en el ángulo sudoeste de Bolivia, limita con los departamentos de Oruro y Cochabamba al noroeste; Chuquisaca al este; Tarija al sudeste; y las repúblicas de Argentina al sur y Chile al sudoeste.

En épocas prehispánicas, el territorio estuvo habitado por pueblos quechuas y aymaras, entre otros. Si bien los incas comenzaron a explorar las minas de plata de la región, fueron los españoles, tras el descubrimiento de vetas argentíferas de Sumaj Orcko, Cerro Rico, por el indígena Diego Huallpa, quienes comenzaron su exploración a gran escala en 1544. Unos meses más tarde, Diego de Centeno fundó la Villa Imperial de Carlos V, la actual Potosí, que poco tiempo después se convirtió en la mayor urbe americana y en el yacimiento que proveyó de ingentes riquezas a la corona española.

En 1810, agotados ya los filones, Potosí se adhirió a la causa de la independencia y obtenida esta, se creó el departamento el 23 de Marzo de 1826, el cual cuenta con 16 provincias.

### **2.3.2 Creación y fundación del Departamento.**

Se crea el 23 de Marzo de 1826, por Decreto Supremo del Mcal. Antonio José de Sucre.

Potosí, fundada el 1° de abril de 1545 por el capitán Juan de Villarreal, tras el descubrimiento de una veta de plata por parte del indígena Diego Huallpa en el cerro Sumaj Orcko.

### **2.3.3 Fiesta Departamental**

10 de noviembre, por el grito independentista de 1810.

### **2.3.4 Superficie Departamental**

118.218 Km<sup>2</sup> (10.858% del territorio nacional).

### **2.3.5 Límites**

Al norte con los departamentos de Oruro y Cochabamba, al sur con la república Argentina, al este con los departamentos de Chuquisaca y Tarija y al oeste con la República de Chile. La ciudad de Potosí se halla en las faldas de la cordillera oriental de los Andes.

### **2.3.6 Aspecto socioeconómico**

**Agricultura:** La producción agrícola es altamente importante. Produce: papa, quinua, oca, trigo, cebada, vid (en los valles de Turuchipa), frutas, verduras, haba, arveja, legumbres y hortalizas.

**Ganadería:** El departamento posee ganado bovino, ovino, porcino, equino y camélido.

**Minería:** Desde las épocas coloniales Potosí fue conocido como el mayor centro de producción de plata. El Cerro Rico entregó a España pródigamente el metal cobijado en las minas de Porco y Portogalete. Los minerales en actual explotación son: zinc, wólfram, plata, azufre, sal común, bórax, etc.

Industria: La mayor industria de Potosí es la extractiva minera. La lana de la llama, alpaca y oveja dan lugar a una importante industria textil.

### **2.3.7 Aspecto climático:**

El departamento de Potosí, más propiamente la ciudad de Potosí se caracteriza por su clima frío y seco, típico de las alturas altiplánicas, ya que se encuentra a más de 4000 metros sobre el nivel del mar.

### **2.3.8 Historia del Seguro Social Universitario Potosí.**

El Seguro Social Universitario Potosí, fue creado en fecha 19 de junio de 1979, bajo la firma de un convenio firmado con la Universidad Mayor de San Andrés de la ciudad de La Paz, que en la primera cláusula indica “Siguiendo la política de Integración del Seguro Social Universitario la línea trazada por el Comité Ejecutivo de la Universidad Boliviana, concordante con la letra y espíritu de la Resolución N° 28/207/11079 del Consejo Supremo Revolucionario de las Universidades del país y el D.S. N°14641 de 3 de junio 1977; la Universidad Tomás Frías de Potosí se integra al Seguro Social Universitario de la UMSA, con todos los derechos y deberes emergentes de su aseguramiento”.

Posteriormente en fecha 19 de enero de 1989 se suscribe otro convenio que la cláusula TERCERA indica: “El Seguro Social Universitario de Potosí, al conformar sus autoridades, directrices, profesionales y administrativas goza de plena autonomía de gestión, técnica administrativa y económica”.

### **2.3.8.1 Visión**

El Seguro Social Universitario diferente y mejor para todos, reconocido por su excelencia en la prestación de servicios de salud, sólido económicamente y auto sostenible, con un alto nivel de organización y un personal que ofrece calidad, calidez y oportuna atención a sus asegurados, beneficiarios y público en general. Una Institución, más ágil, más accesible, más agradable, más eficiente, más humana donde el paciente se sienta cuidado y respetado.

### **2.3.8.2 Misión**

Proteger la salud del asegurado y de su familia, mediante los servicios de promoción, prevención, curación y rehabilitación en los seguros de enfermedad, maternidad y riesgos profesionales a corto plazo garantizando la eficiencia, eficacia y economicidad.

Periódicamente la institución lleva a cabo programas de Medicina preventiva para todos sus asegurados, con el objeto de prevenir y diagnosticar en forma oportuna cualquier enfermedad.

En la actualidad la institución cuenta con más de 14000 asegurados, a los cuales se les presta servicios de medicina general, cirugía, maternidad, terapia intensiva, odontología, pediatría, ginecología, traumatología, oftalmología, imagenología, fisioterapia, laboratorio clínico, farmacia y la opción de atención de todas las demás especialidades médicas que la institución no cuente, contando con 45 salas para la internación de los pacientes con una planta de 6 médicos de guardia y 26 enfermeras que coordinan el trabajo de clínica.

El servicio de laboratorio clínico cuenta con 7 trabajadores, de los cuales son 4 bioquímicos, 2 técnicos de laboratorio y una enfermera auxiliar. Este servicio

cuenta con las áreas de hematología, química sanguínea, serología, parasitología y bacteriología.

### **CAPITULO III**

#### **MARCO METODOLÓGICO**

#### **3.1. ENFOQUE, TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN**

##### **3.1.1. Enfoque.**

Es de tipo cuantitativo, por que se emplearon técnicas y métodos de tipo cuantitativo, y se pretende comprobar una hipótesis, la sensibilidad y especificidad de la prueba de inmunocromatografía en relación a los medios de cultivo, así como los valores predictivos positivos y negativos en el diagnóstico laboratorial de faringitis y faringoamigdalitis.

El estudio es de tipo observacional porque no se manipularon las variables que afectan en el desarrollo de las pruebas inmunocromatográficas y las colonias de los cultivos bacteriológicos.

Según su profundidad es de tipo descriptivo, ya que se realizó la descripción de la sensibilidad y especificidad, y de los valores predictivos positivo y negativo

Según su alcance temporal, es de corte transversal pues se recogió las variables de estudio al mismo tiempo.

Es de tamizaje poblacional o de pruebas diagnósticas, porque se comparó una prueba diagnóstica de inmunocromatografía (Prueba rápida) con el gold estándar del diagnóstico de *S. pyogenes* que es el cultivo en agar sangre e identificación con Bacitracina y PYR.

## **3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA.**

### **3.2.1. Población (Universo)**

El estudio se realizó en las muestras de pacientes que fueron referidas al laboratorio del Seguro Social Universitario de Potosí, que son un total de 85 pacientes entre Enero y Mayo de 2014.

### **3.2.2. Muestra:**

No se realizó el cálculo de tamaño muestra, debido a que se trabajó con toda la población.

## **3.3. VARIABLES DE ESTUDIO.**

### **3.3.1. Identificación de Variables**

#### **3.3.1.1. Variables:**

- Prevalencia de *S. pyogenes* en pacientes con faringitis y/o faringoamigadalis
- Sensibilidad de la prueba inmunocromatográfica (Strep aim Germaine) ®, vs Cultivo en agar sangre.
- Especificidad de la prueba inmunocromatográfica (Strep aim Germaine) ®, vs cultivo en Agar sangre
- Valor predictivo positivo de la prueba inmunocromatográfica (Strep aim Germaine) ®, vs cultivo en Agar sangre.
- Valor predictivo negativo de la prueba inmunocromatográfica (Strep aim Germaine) ®, vs cultivo en Agar sangre.
- Sensibilidad antimicrobiana de cepas de *S. pyogenes*.

### 3.3.1.2. Operacionalización de variables

Objetivo Especifico	Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Categorías	Instrumentación	Tipo de variable
Determinar la prevalencia de <i>S. pyogenes</i> en faringitis y/o faringoamigdalitis mediante cultivo tradicional en pacientes pediátricos y adultos que asisten al Seguro Social Universitario de Potosí.	Prevalencia	proporción de individuos de un grupo o una población que presentan una característica o evento determinado en un momento o en un período determinado	Prevalencia de faringitis <i>Streptococica</i> en pacientes atendidos en el SSUP	Porcentaje de Prevalencia	Hoja de registro de cultivo	Dependiente, cuantitativa continua
Evaluar la sensibilidad y especificidad de la técnica inmunocromatografica de detección cualitativa de antígenos de <i>S. pyogenes</i> , considerando el cultivo como método de referencia en pacientes con faringitis.	sensibilidad	cantidad mínima de la molécula, organismo etc. que una determinada técnica es capaz de detectar o a partir de la cual puede generar una señal	Según la capacidad de la prueba de Inmunocromatografía (Strep Aim Germaine) de detectar verdaderos positivos	Porcentaje de sensibilidad	Hoja de registro de cultivo	Independiente, Cuantitativa continua
	especificidad	la probabilidad de que un sujeto sano tenga un resultado negativo en la	Según la capacidad de la prueba de Inmunocromatografía (Strep Aim	Porcentaje de sensibilidad	Hoja de registro de cultivo	Independiente, Cuantitativa continua

		prueba.	Germaine) de detectar verdaderos positivos			
Determinar los valores predictivo positivo y negativo de la prueba inmunocromatográfica de <i>S. pyogenes</i> en pacientes con faringitis, del Seguro Social Universitario de Potosí.	Valor predictivo positivo	Capacidad de la prueba de detectar a los positivos con referencia al gold standart	Según la capacidad de la prueba de Inmunocromatografía (Strep Aim Germaine) de detectar Infectados	Porcentaje de valor predictivo positivo	Hoja de registro de cultivo	Independiente, Cuantitativa continua
	Valor predictivo negativo	Capacidad de la prueba de detectar a los negativos con referencia al gold standart	Según la capacidad de la prueba de Inmunocromatografía (Strep Aim Germaine) de detectar No infectados	Porcentaje de valor predictivo negativo	Hoja de registro de cultivo	Independiente, Cuantitativa continua
Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de <i>S pyogenes</i> aislados en faringitis aguda	Susceptibilidad antimicrobiana	susceptibilidad de los microorganismos a una variedad de agentes antimicrobianos , bajo condiciones de laboratorio específicas y estandarizadas	susceptibilidad antibiótica de <i>Streptococcus pyogenes</i> obtenido en los cultivos faringeos	Sensible, intermedio y resistente	Hoja de registro de cultivo	Independiente, Cualitativa nominal

### **3.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN**

#### **3.4.1. Criterios de Inclusión.**

Pacientes pediátricos (3 - 15 años) y pacientes adultos (mayores de 16 años) que acudan al laboratorio clínico del SSUP con diagnóstico clínico de faringitis y faringoamigdalitis aguda.

Tener el consentimiento informado firmado, en pacientes pediátricos por su madre, padre o apoderado, autorizando la utilización de su muestra de hisopado faríngeo para la presente investigación.

#### **3.4.2. Criterios de Exclusión**

Pacientes que se encuentren en tratamiento antibiótico o lo hayan recibido durante los últimos 10 días.

Pacientes que acudan al SSUP por un consulta de control (consulta de control intra y post tratamiento) pediátrica o adulta.

### **3.5. PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN**

#### **3.5.1. Fuente de recolección de la información.**

Es primaria, porque los datos se obtuvieron directamente de las muestras obtenidas de las personas que participaron del estudio.

#### **3.5.2. Descripción de los instrumentos de recojo de información que fueron utilizados.**

Se utilizó una hoja de registro, donde se incluyeron los datos recolectados de las pacientes que participaron de la investigación, referidos a tipo de muestra, resultado de la prueba inmunocromatografica (Strep Aim Germaine) ® y

proliferación en agar sangre, datos personales del paciente y los factores de riesgo.

### **3.6. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.**

#### **3.6.1. Materiales:**

Hisopos estériles comunes (para cultivo)

Hisopos de rayón o poliéster (para la prueba inmunocromatográfica)

Cajas petri de 10 mm de diámetro (20 ml)

Tubos de ensayo con tapa rosca estériles.

Portaobjetos.

Asa bacteriológica.

Aguja bacteriológica.

Mechero Bunsen.

Matraz Erlenmeyer de 500 ml

Gradilla para tubos de hemólisis

#### **3.6.2. Equipos:**

Estufa cocinilla.

Autoclave

Estufa incubadora de 35°

Estufa esterilizadora (pupinel)

Microscopio óptico

Refrigerador 4° C

Cabina de bioseguridad.

#### **3.6.3. Reactivos:**

Medio de cultivo solido Agar Trypticase Soya (Britania "Argentina")

Discos prueba Pirrolidonil Arilamidasa PYR (Britania "Argentina")

Sangre humana obtenida con citrato de sodio.

Reactivo Inmunocromatográfico para detección de antígeno de *Streptococcus* del grupo A Strep Aim Germaine.

Medio de cultivo solido Mueller Hilton (Britania "Argentina").

Solución fisiológica estéril.

Peróxido de hidrogeno al 3 %.

Sensidiscos de bacitracina 0.04 U (Britania "Argentina").

Sensidiscos de Eritromicina 15 ug. (Britania "Argentina").

Sensidiscos de Clindamicina 2 ug. (Britania "Argentina").

Sensidiscos de Penicilina 10 U (Britania "Argentina").

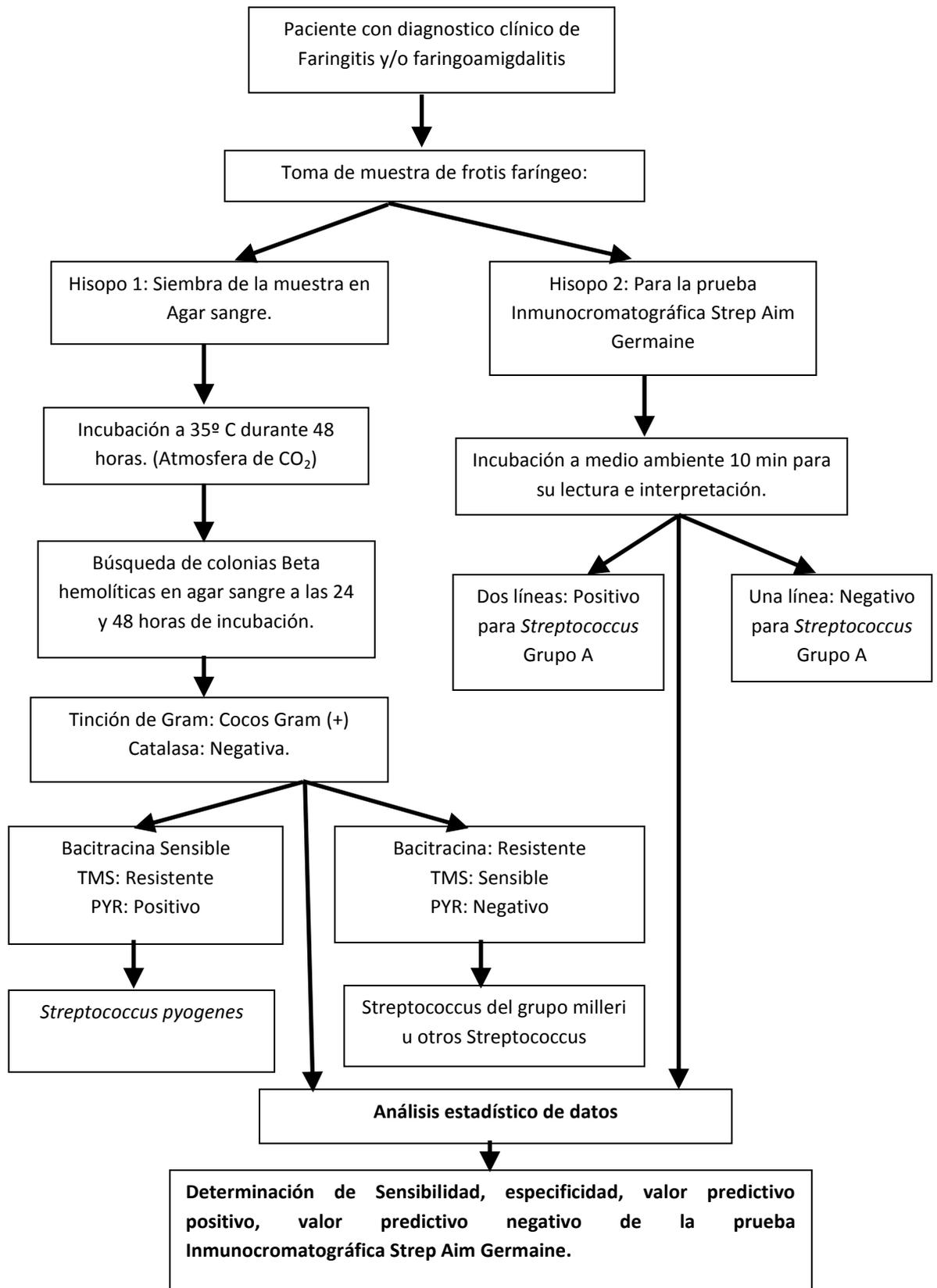
Sensidiscos de trimetoprim/sulfametoxazol 1.25 ug/23.75ug (Britania "Argentina").

Batería de tinción gram.

Aceite de inmersión.

Cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

### 3.7. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS



TMS: Sulfametoxazol/Trimetropin  
PYR: Pirrolidonil Arilamidasa

Antes de iniciar la evaluación de los medios de cultivo se utilizó una cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, como control positivo en los medios de cultivo y las pruebas de identificación complementarias.

### **3.7.1. Preparación de medios de cultivo**

#### **3.7.1.1. Agar Sangre (con sangre humana)**

Se preparó el medio de cultivo utilizando 5 % de sangre humana y medio de cultivo sólido Agar Trypticase Soya (Britania "Argentina) (anexo 3)

La sangre humana fue obtenida en tubos colectoras siguiendo los protocolos de extracción de bancos de sangre, utilizando como anticoagulante citrato de sodio en una proporción 1/5,5 (1 ml citrato de sodio (3,2%) + 4.5 ml sangre fresca donante), la sangre humana utilizada pertenece a una persona clínicamente sana y que no presentó antecedentes de enfermedades infecciosas de gravedad.

#### **3.7.1.2. Agar Mueller Hilton con sangre al 5%**

Se preparó el medio de cultivo utilizando 5 % de sangre humana y medio de cultivo sólido Agar Mueller Hilton (Britania "Argentina) (anexo 4)

### **3.7.2. Toma de muestra.**

Las muestras fueron recolectadas de los pacientes por la Unidad de toma de muestra en dos hisopos (hisopo de algodón para el cultivo y la placa de la tinción de Gram y el otro hisopo de poliéster para la prueba rápida de inmunocromatografía),

Para la toma de muestra, se solicitó al paciente que coloque la cabeza en hiperextensión y se iluminó la faringe, se enfocó una luz brillante dentro de la cavidad bucal por encima del hombro de la persona que tomó la muestra, luego

con un baja lenguas estéril se deprimió la lengua con el fin de tener una buena visualización de la faringe y amígdalas.

Se pidió al paciente que respire profundamente y con un hisopo se frotó con firmeza ambas amígdalas y la faringe posterior, también se tomó una muestra de todo el exudado purulento, se realizó esta operación 2 veces.

Al introducir y retirar el hisopo se tuvo cuidado de no tocar las paredes laterales de la cavidad bucal o lengua para reducir al mínimo la contaminación con bacterias de la flora comensal.

Luego de la recolección, a las muestras obtenidas se les realizó los siguientes procedimientos.

### **3.7.3. Siembra**

Una vez tomada la muestra se sembró en el agar sangre y a la vez con el otro hisopo se procedió con la metodología del kit de la prueba inmunocromatográfica (Strep Aim Germaine) ®, a utilizar.

Se sembró en 1/3 de una placa de agar sangre con el hisopo y se agotó la muestra en la superficie con un asa bacteriológica, se utilizó la técnica de agotamiento en cuatro cuadrantes, haciendo cortes en profundidad de tal manera que se expresen las hemolisinas de *Streptococcus pyogenes*.

Los cultivos se incubaron a una temperatura de 35 a 37 C en atmósfera CO<sub>2</sub> por 24 a 48 horas, la primera lectura se realizó a las 24 horas buscando colonias beta hemolíticas. Si no hubo desarrollo de estas colonias, se volvió a incubar hasta las 48 horas.

### 3.7.4. Identificación de *Streptococcus* aislados.

Las colonias beta hemolíticas fueron identificadas según métodos estándares normados con los que el laboratorio cuenta:

Tinción Gram.

Prueba de la catalasa.

Susceptibilidad a Bacitracina 0.04 U y Trimetoprim / sulfametoxazol 1.25ug / 23.75ug.

Prueba PYR (Pirrolidonil Arilamidasa)

#### 3.7.4.1. Hemólisis

*Streptococcus pyogenes* en agar sangre presentó colonias beta hemolíticas circulares, translucidas o transparentes y que tienen una superficie lisa o mate, de borde entero con un diámetro variable de 0.3 a 0.5 mm. El tamaño de la zona de hemólisis fue de dos a tres veces el diámetro de la colonia, en algunas cepas fue de menor tamaño. (Anexo 6)

Para diferenciar *Streptococcus pyogenes* de otros estreptococos beta hemolíticos se utilizaron distintos métodos que mencionamos a continuación.

#### 3.7.4.2. Tinción de Gram.

A partir de la colonia sospechosa se realizó una tinción de Gram ver procedimiento en **Anexo 5**. Se examinó el frotis teñido con el objetivo de 100X y con aceite de inmersión al microscopio óptico. Microscópicamente las células de *Streptococcus pyogenes* se observaron como cocos Gram (+) de 0.6 a 1.0 um de diámetro, que se agrupan en forma de cocos en cadenas de longitud variable.

### 3.7.4.3. Prueba de la catalasa

Con una aguja de inoculación se transfirió una porción del centro de una colonia a la superficie de un portaobjetos de vidrio, luego se colocó una gota de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3% sobre el portaobjetos. El desprendimiento de burbujas se consideró una prueba positiva. La formación de unas pocas burbujas luego de 20 a 30 segundos no se consideró un resultado positivo, además los eritrocitos tienen catalasa por lo cual se tuvo cuidado de no arrastrarlos junto con la colonia estudiada. (Anexo 7)

### 3.7.4.4. Bacitracina y trimetoprim/sulfametoxazol

Bacitracina (A): Esta prueba se basa en la susceptibilidad de *S. pyogenes* a la bacitracina. Se realizó mediante la colocación de un disco que contiene 0,04 U de bacitracina sobre una o dos colonias extendidas en agar sangre y se incubó por 18 a 24 horas a 35 C. Se determinó la susceptibilidad a la bacitracina mediante la medición del halo de inhibición de crecimiento, cualquier zona de inhibición alrededor del disco se consideró una prueba positiva. (Anexo 8)

Trimetoprim - sulfametoxazol (TMS): La prueba de sensibilidad a Trimetoprim - sulfametoxazol diferenció los estreptococos del grupo A (*Streptococcus pyogenes*) y del grupo B (*Streptococcus agalactiae*) de otros estreptococos beta hemolíticos. Se utilizó un disco comercial (1,25 ug trimetoprim y 23,75 ug sulfametoxazol), mediante la colocación de un disco sobre una o dos colonias extendidas en agar sangre y se incubó por 24 horas a 35 -37 C. Cualquier zona de inhibición indicó sensibilidad a trimetoprim-sulfametoxazol.

Cuando se utilizó junto a la bacitracina, permitió diferenciar los estreptococos según la sensibilidad (S) o resistencia (R) que presentaron, de la siguiente forma:

Bacitracina (S) y TMS (R): *Streptococcus pyogenes* del grupo A.

Bacitracina (R) y TMS (R): *Streptococcus agalactiae* del grupo B.

Bacitracina (R) o (S) y TMS (R): Estreptococos beta hemolíticos de otros grupos (grupos C, F o G)

#### **3.7.4.5. Prueba de PYR (Pirrolidonil Arilamidasa)**

En un tubo de ensayo se colocaron 50 ul de agua destilada estéril y se realizó una suspensión densa de la bacteria en estudio (2 a 4 escala Mc Farland), se colocó un disco PYR y se agitó el tubo hasta que el disco quedó sumergido en la suspensión. Luego se incubó a 35 C durante 30 minutos, posteriormente se agregó al tubo una gota de la solución reveladora (Pirrolidonil-beta-naftilamina) y se observó el cambio de color del disco durante 5 minutos. Un color rojo rosado del disco indicó una prueba positiva, si el disco no cambio de color se consideró una prueba negativa. (Anexo 9)

#### **3.7.5. Procedimiento para el test rápido cualitativo para detección de antígeno de streptococcus del grupo "A"**

Se utilizó el hisopo de poliéster en la toma de muestra e inmediatamente se procedió a la realización de la prueba inmunocromatográfica (Strep Aim Germaine) ®, según se detalla a continuación:

Paso 1, se colocó 4 gotas del reactivo A en el tubo plástico provisto, el reactivo A es de color rosado.

Paso 2, se añadió 4 gotas del reactivo B al tubo plástico provisto, el reactivo B es incoloro, se mezcló la solución suavemente y cambio a color amarillo.

Paso 3, inmediatamente se inserto el hisopo en el tubo con la solución, se agitó en rotación suave, por 10 veces en el lapso de un minuto.

Paso 4, comprimir el hisopo en las paredes del tubo para escurrirlo antes de retirarlo, para extraer la mayor cantidad de liquido posible, luego se descarta el hisopo.

Paso 5, Retirar el empaque de la tira inmunocromatográfica, a continuación colocar la tira en el tubo encima de la solución amarilla, verificar que el volumen de la solución no sobrepase la línea de Stop de la tira, dejar la corrida de inmunocromatografica durante 5 min, interpretar el resultado después de 10 min.

#### **3.7.5.1. Interpretación de resultados de la prueba rápida inmunocromatografica.**

**Resultado negativo:** la prueba se consideró negativa cuando apareció una sola línea coloreada en la zona de control. Esto consideró que es presuntivamente negativo, ya que indica que el antígeno de *Streptococcus* del grupo A, no está presente, o es muy escaso para su detección directa, la prueba confirmatoria del resultado es el cultivo para *S. pyogenes* en agar sangre.

**Resultado positivo:** La prueba se consideró positiva cuando apareció dos líneas coloreadas, una en la zona del test y la otra en la zona de control, esto nos indica que la muestra contiene niveles detectables de antígeno de *Streptococcus* del grupo A, si la línea coloreada es muy débil, igual se considera positiva.

**Resultados inválidos:** Se considerará la prueba invalida cuando no aparece ninguna línea coloreada, ni en la zona del test, ni en la zona de control. Esto indica una posible falla o deterioro del reactivo, insuficiente cantidad de extracción en la solución.

En ese caso se descarta la tira y se debe repetir el procedimiento con una nueva tira.

### **3.7.6. Procedimiento para la realización del antibiograma Kirby – Bauer modificado en Agar Mueller Hinton con sangre al 5% para *Streptococcus pyogenes*.**

Una vez identificada la cepa de *S. pyogenes*, se prepara el inóculo para el antibiograma, se toma una colonia del cultivo de agar sangre, y se suspende en solución fisiológica estéril, hasta llegar a una turbidez de 0,5 en la escala de Mac Farland.

Se procede a sembrar en el agar Mueller Hinton con sangre al 5%, con un hisopo, el cual se escurre en las paredes del tubo de hemólisis que contiene la suspensión del inóculo. Luego se procedió a realizar la siembra por inundación en tres cuadrantes.

Se deja secar unos minutos, y luego se colocan los sensidiscos de los antimicrobianos, en este caso se utilizaron: Penicilina, Eritromicina y Clindamicina.

Se incuba a 35 °C durante 18 a 24 horas en atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5%, y luego se procede a medir los halos de inhibición del antimicrobiano, teniendo cuidado de no confundir con el halo de hemólisis Beta que genera el microorganismo.

**Interpretación:** Se usó la tabla 2H-1, Zone Diameter and Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Interpretative Standards for *Streptococcus spp.* B-hemolytic Group de la CLSI de Atlante del 2014,<sup>13</sup> donde se consideran tres categorías de resultados posibles, sensible, intermedio y resistente, de acuerdo a los parámetros indicados para cada antimicrobiano.

### **3.8. INSTRUMENTOS Y TÉCNICAS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.**

Para la recolección de datos se utilizó un formulario de registro el cual se fue llenando y archivándose hasta alcanzar el tamaño muestra recolectado en el tiempo programado para el presente trabajo. (Anexo 1)

### **3.9. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS**

Con los datos obtenidos, realizando las pruebas mencionadas en los medios de cultivo y la prueba de Inmunocromatografía evaluados, se creó una base de datos en Microsoft Excel, con el programa estadístico IBM SPSS Statics 19 y EPIDAT 3.0, con los cuales se realizaron las tablas y gráficos para luego determinar las tasas de sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos a partir de tablas 2X2.

**CAPITULO IV**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**4.1. RESULTADOS**

**4.1.1. Resultados descriptivos**

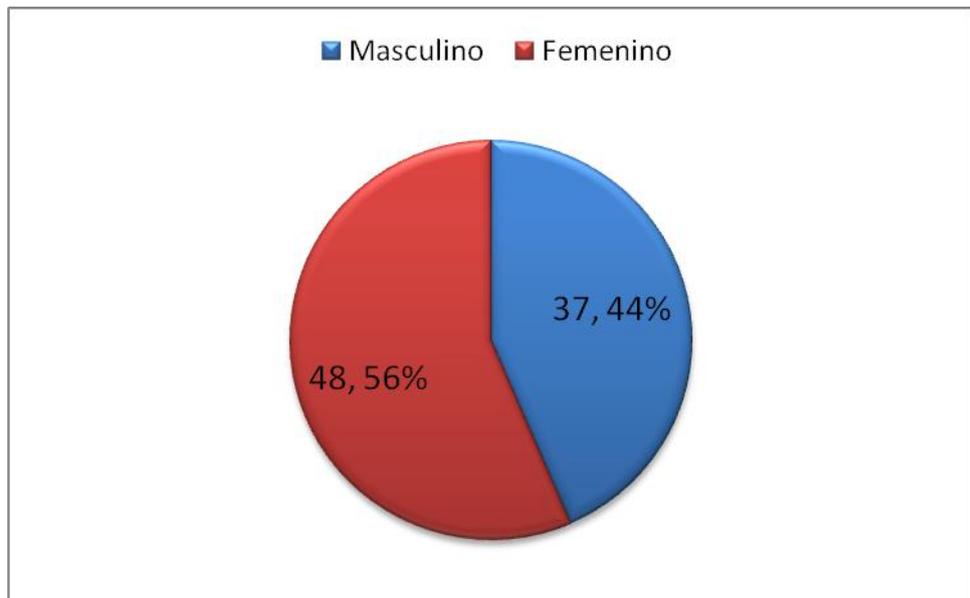
**4.1.1.1. Tabla 1. DISTRIBUCIÓN POR EDAD DE LOS PACIENTES CON FARINGITIS AGUDA Y FARINGOAMIGDALITIS, QUE ACUDIERON AL LABORATORIO DEL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO POTOSI 2014**

<b>Grupo etareo (años)</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Porcentaje válido</b>	<b>Porcentaje acumulado</b>
Menor a 5	14	16,5	16,5	16,5
6 a 15	15	17,6	17,6	34,1
16 a 25	11	12,9	12,9	47,1
26 a 35	15	17,6	17,6	64,7
36 a 45	15	17,6	17,6	82,4
46 a 55	7	8,2	8,2	90,6
56 a 65	5	5,9	5,9	96,5
Mayor a 66	3	3,5	3,5	100,0
Total	85	100,0	100,0	

Fuente: formulario de registro de pacientes.

Se observa que los grupos etarios se encuentran, entre 6 a 15 años (17,6%), 26 a 35 años (17,6%) y 36 a 45 años (17,6 %) con un promedio de edad de 27,34 años, una mediana de 30 años.

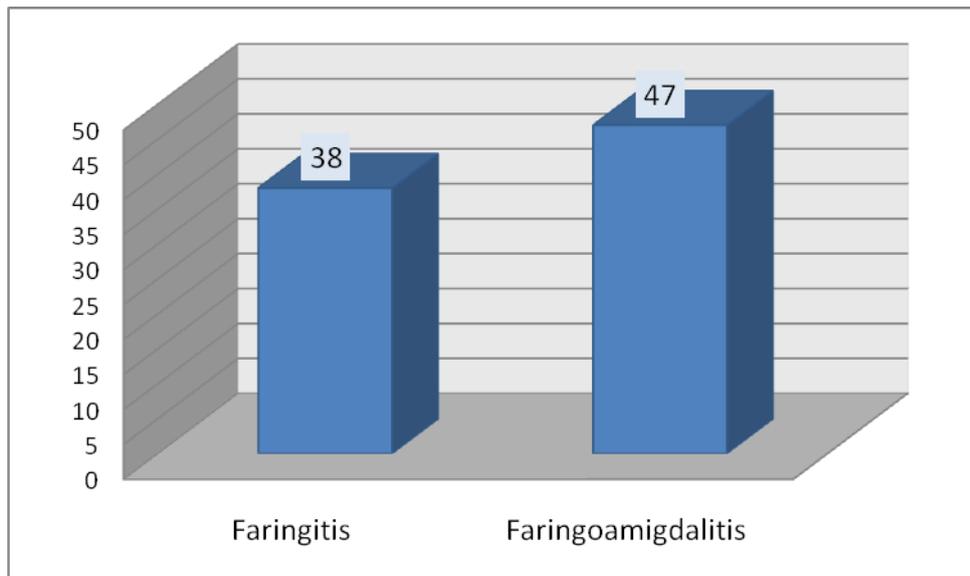
**4.1.1.2. Gráfico 1. DISTRIBUCIÓN POR SEXO DE LOS PACIENTES CON FARINGITIS Y FARINGOAMIGDALITIS AGUDA, QUE ACUDIERON AL LABORATORIO DEL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO POTOSI 2014**



Fuente: formulario de registro de pacientes.

La mayor cantidad de los pacientes es del sexo femenino con 48 pacientes (56%) y 37 varones que representan el 44%.

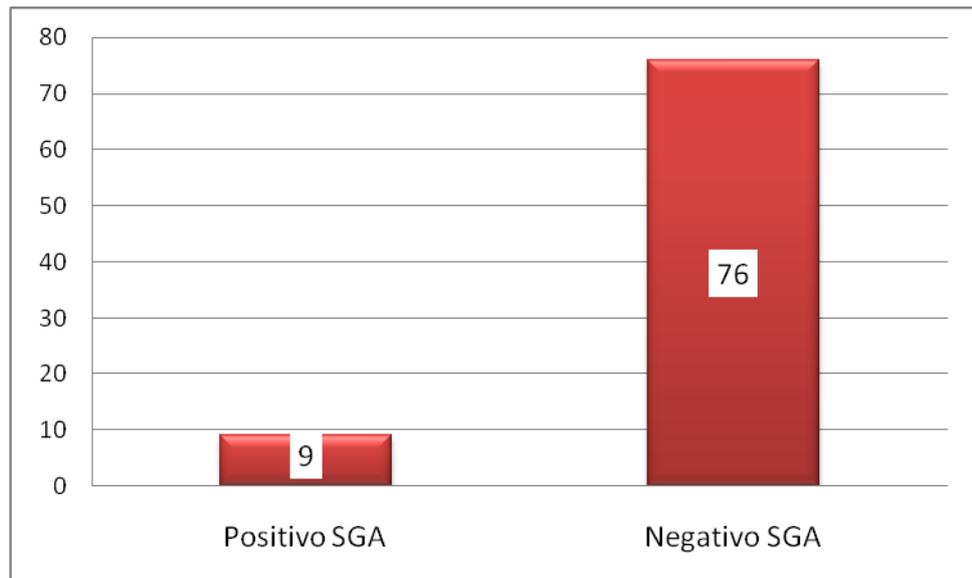
**4.1.1.3. Gráfico 2. DISTRIBUCIÓN SEGÚN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE LOS PACIENTES CON FARINGITIS Y FARINGOAMIGDALITIS AGUDA, QUE ACUDIERON AL LABORATORIO DEL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO POTOSI 2014**



Fuente: formulario de registro de pacientes.

El gráfico 2, presenta que el diagnóstico de faringoamigdalitis fue de 55% y la faringitis fue de 45% de los pacientes atendidos.

**4.1.1.4. Gráfico 3. DETECCIÓN DE *STREPTOCOCCUS* GRUPO “A”,  
MEDIANTE CULTIVO TRADICIONAL EN LOS PACIENTES CON  
FARINGITIS Y FARINGOAMIGDALITIS AGUDA, QUE  
ACUDIERON AL LABORATORIO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIVERSITARIO DE POTOSÍ. 2014**

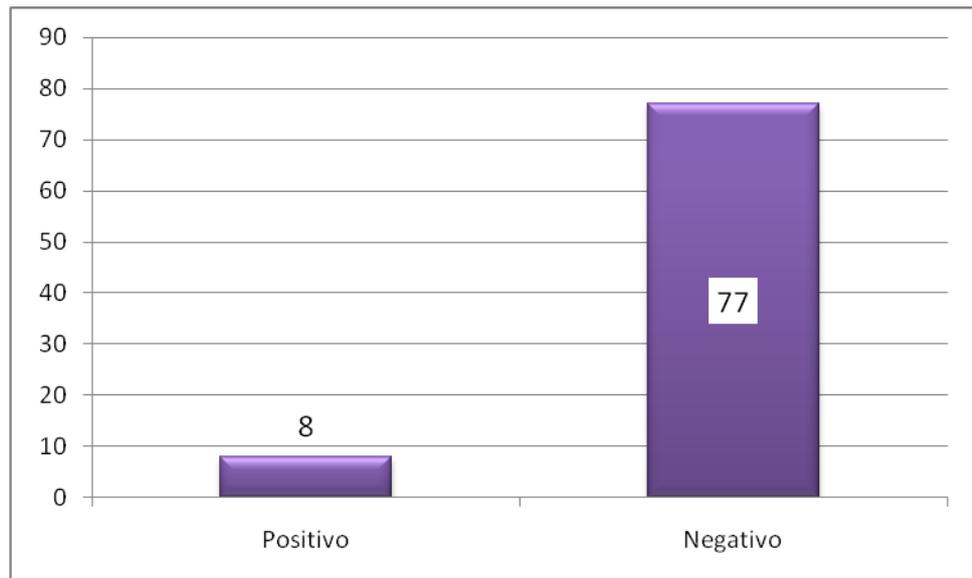


Fuente: formulario de registro de pacientes.

SGA: *Streptococcus* del Grupo A

*Streptococcus pyogenes* se aisló mediante cultivo tradicional en agar sangre en 9 pacientes (10,6%)

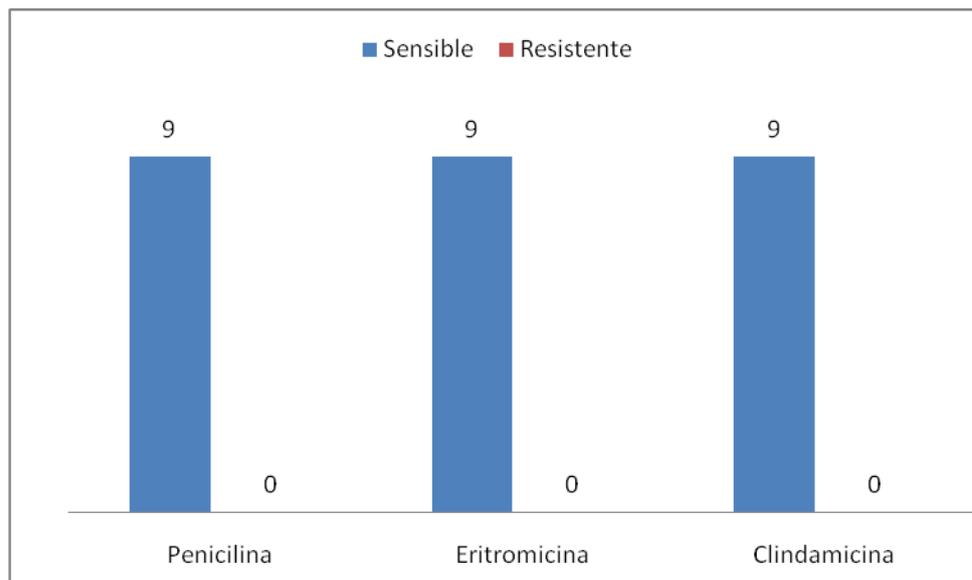
**4.1.1.5. Gráfico 4. DETECCIÓN DE STREPTOCOCCUS GRUPO “A”,  
MEDIANTE PRUEBA INMUNOCROMATOGRÁFICA EN LOS  
PACIENTES CON FARINGITIS Y FARINGOAMIGDALITIS AGUDA,  
QUE ACUDIERON AL LABORATORIO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIVERSITARIO DE POTOSÍ. 2014**



Fuente: formulario de registro de pacientes.

El gráfico 4, muestra que la prueba rápida inmunocromatográfica Strep Aim Germaine, presenta positividad en 8 pacientes con la prevalencia del 9,4%.

**4.1.1.6. Gráfico 5. RESULTADO DEL ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS DE LAS 9 CEPAS DE *S. PYOGENES* AISALDOS DE PACIENTES CON FARINGITIS Y FARINGOAMIGDALITIS DE LOS PACIENTES QUE ACUDIERON AL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO DE POTOSÍ. 2014**

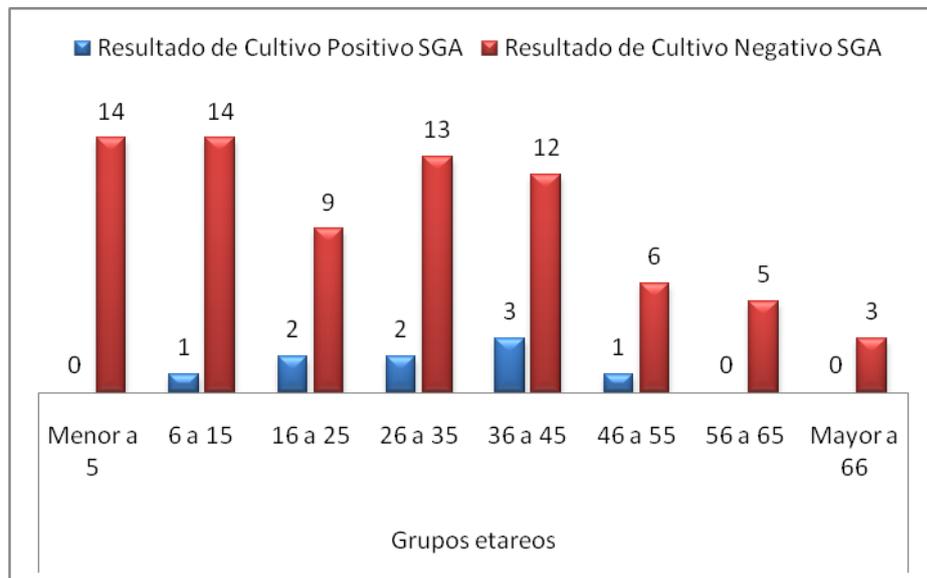


Fuente: formulario de registro de pacientes.

Los resultados muestran que las 9 cepas (100%) de *Streptococcus pyogenes* aisladas son sensibles a Penicilina, Eritromicina y Clindamicina

#### 4.1.2. Resultados analíticos.

##### 4.1.2.1. Gráfico 6. RELACION DEL RESULTADO DE CULTIVO PARA *STREPTOCOCCUS PYOGENES* Y EL GRUPO ETAREO EN LOS PACIENTES CON FARINGITIS Y FARINGOAMIDALITIS AGUDA, QUE ACUDIERON AL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO DE POTOSÍ. 2014



Fuente: formulario de registro de pacientes.

El grupo etareo con más positivos al cultivo de *Streptococcus pyogenes* es el de 36 a 45 años con 3 personas que representa el 25% del grupo de pacientes.

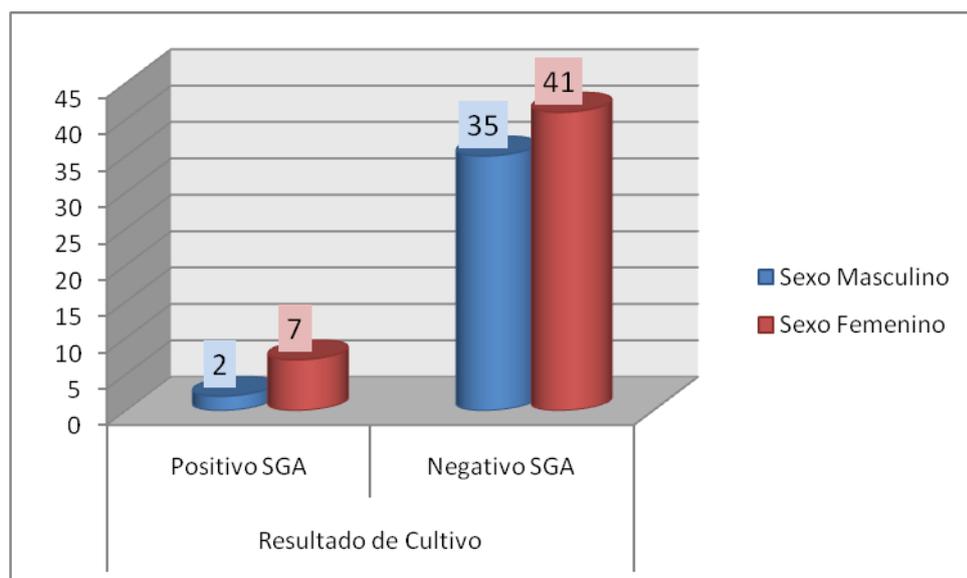
**4.1.2.2. Tabla 2. RELACION DEL RESULTADO DE CULTIVO TRADICIONAL DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* Y POBLACION PEDIÁTRICA Y ADULTO CON FARINGITIS O FARIGOAMIDDALITIS AGUDA, QUE ACUDIERON AL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO DE POTOSÍ. 2014**

Grupo etareo (años)		Resultado de cultivo				Total	%
		Positivo SGA	%	Negativo SGA	%		
Pediátrico	menor o igual a 15	1	4,4	28	96,6	29	100
Adulto	Mayor de 16	8	14,3	48	85,7	56	100
<b>Total</b>		9	10,6	76	77,2	85	100

Fuente: formulario de registro de pacientes.

Nos muestra que la mayor frecuencia de casos de *S pyogenes* positivos se encuentra en el grupo de los pacientes adultos con 8 de 56 pacientes, que representa el 14,3 % del grupo de pacientes adultos.

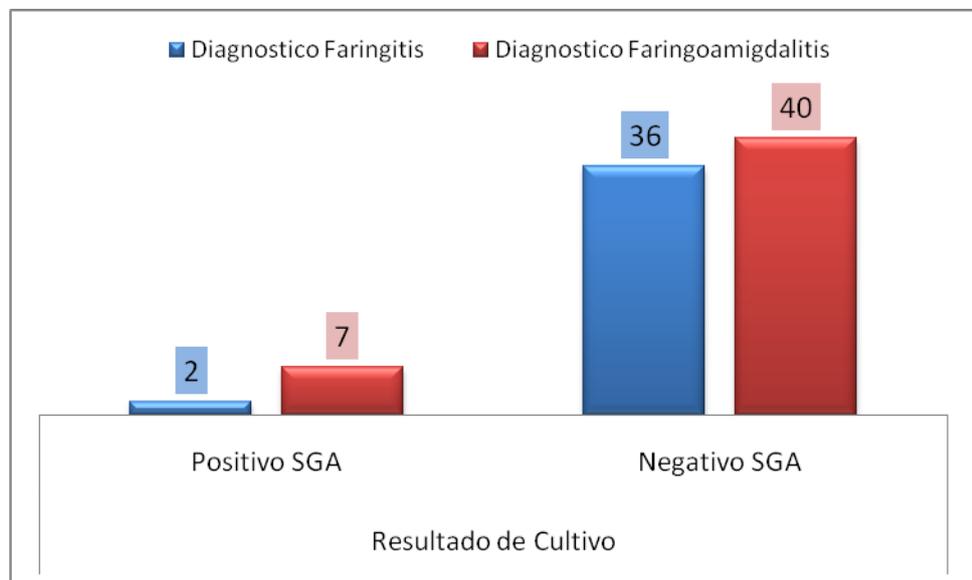
**4.1.2.3. Gráfico 7. RELACION DEL RESULTADO DEL CULTIVO TRADICIONAL DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* Y EL SEXO DE LOS PACIENTES CON FARINGITIS O FARIGOAMIDDALITIS AGUDA, QUE ACUDIERON AL LABORATORIO DEL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO DE POTOSÍ. 2014**



Fuente: formulario de registro de pacientes.

Se muestra que la mayor frecuencia de casos positivos se encuentra en las personas de sexo femenino, con 7 pacientes que representa el 17 % de su género.

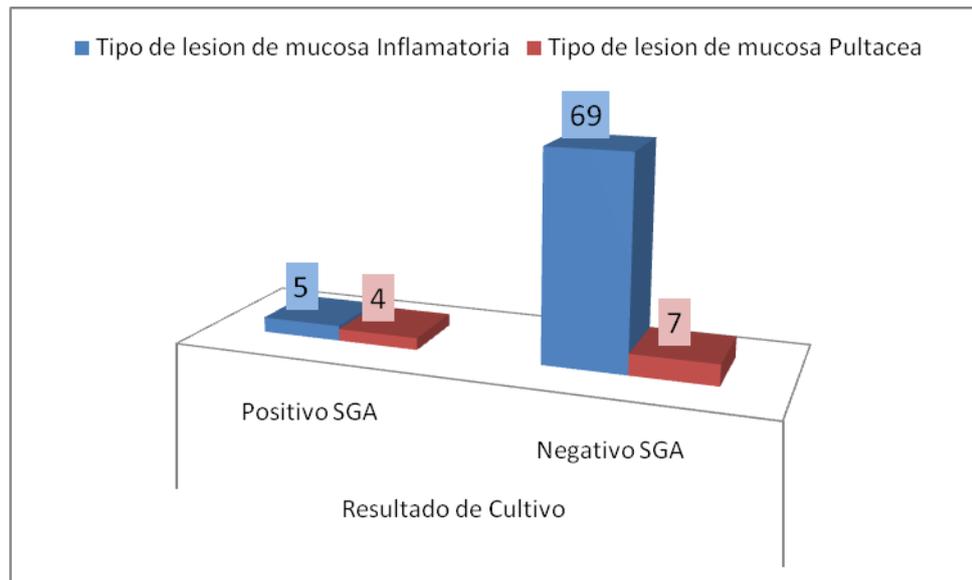
**4.1.2.4. Gráfico 8. RELACION ENTRE EL RESULTADO DEL CULTIVO TRADICIONAL DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* Y EL DIAGNOSTICO CLINICO DE LOS PACIENTES QUE ACUDIERON AL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO DE POTOSÍ. 2014**



Fuente: formulario de registro de pacientes.

Se muestra que el diagnóstico de faringoamigdalitis es el de mayor frecuencia de *Streptococcus pyogenes* en los cultivos, con 7 pacientes que representa el 17,5% de los pacientes con ese diagnóstico.

**4.1.2.5. Grafico 9. RELACION DEL RESULTADO DEL CULTIVO TRADICIONAL DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* Y EL TIPO DE LESIÓN DE MUCOSA FARÍNGEA EN LOS PACIENTES QUE ACUDIERON AL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO DE POTOSÍ. 2014**



Fuente: formulario de registro de pacientes.

En el gráfico nos muestra que los pacientes con tipo de lesión de mucosa faríngea, con aspecto inflamatorio presentan la mayor frecuencia entre los positivos con 5 pacientes que representa el 55,5% de los positivos.

### 4.1.3. Resultados de asociación.

**4.1.3.1.1. Tabla 3. EVALUACIÓN DE LA PRUEBA INMUNOCROMATOGRÁFICA STREP AIM GERMAINE VERSUS CULTIVO TRADICIONAL PARA STREPTOCOCCUS PYOGENES, EN LOS PACIENTES CON FARINGITIS O FARINGOAMIGDALITIS AGUDA, QUE ACUDIERON AL LABORATORIO DEL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO POTOSI 2014**

Prueba diagnóstica	Prueba de referencia cultivo		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	8	0	8
Negativo	1	76	77
Total	9	76	85

Fuente: formulario de registro de pacientes.

	Valor	IC (95%)	
<b>Sensibilidad (%)</b>	88,89	83,21	94,57
<b>Especificidad (%)</b>	100	99,34	100,00
<b>Índice de Validez (%)</b>	98,82	98,22	99,43
<b>Valor predictivo + (%)</b>	100	93,75	100,00
<b>Valor predictivo - (%)</b>	98,7	98,04	99,37
<b>Prevalencia (%)</b>	10,59	9,96	11,22

Fuente: Según tabla N° 13 calculado en EPIDAT

El estudio de la evaluación de la prueba rápida inmunocromatográfica (Strep Aim Germaine) ® con relación al medio de cultivo Agar Sangre Humana, presentó una sensibilidad del 88,89 % y una especificidad del 100 %, con un valor predictivo positivo del 100 % y valor predictivo negativo del 98,7 %.

**Sensibilidad:** De Cada cien pacientes que presentan faringitis y faringoamigdalitis aguda por *Streptococcus pyogenes* según el cultivo, 88,89 son clasificados como Positivos para *S. pyogenes* por la Prueba Rápida de Detección de antígeno específico (Strep Aim Germaine) ®

**Especificidad:** De cada 100 pacientes que no presentan faringitis y faringoamigdalitis aguda por *Streptococcus pyogenes* según el cultivo, 100 son clasificados como Negativos para *S. pyogenes* por la Prueba Rápida de Detección de antígeno específico (Strep Aim Germaine) ®.

**Valor Predictivo Positivo:** De cada 100 pacientes clasificados como Positivos para *Streptococcus pyogenes*, por la Prueba Rápida de Detección de antígeno específico (Strep Aim Germaine) ®, 100 son clasificados como realmente positivos.

**Valor Predictivo Negativo:** De cada 100 pacientes clasificados como Negativos para *Streptococcus pyogenes*, por la Prueba Rápida de Detección de antígeno específico (Strep Aim Germaine) ®, 98,7 son clasificados como realmente negativos.

## 4.2. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

El presente estudio describe el diagnóstico bacteriológico de una de las infecciones de las vías respiratorias altas, que representan para todos los países un importante problema de salud. La faringitis y faringoamigdalitis, son frecuentes en la población pediátrica, como también se presentan en adolescentes y adultos jóvenes, es más prevalente en climas fríos y en los periodos de invierno y primavera, por lo que en nuestra ciudad de Potosí, esta situación se hace más preocupante por las bajas temperaturas y los cambios bruscos de temperatura.

El cultivo de hisopado faríngeo en agar sangre es el método estándar de referencia para el aislamiento de *Streptococcus pyogenes* por su elevada sensibilidad y especificidad, a pesar del tiempo que demanda su realización de 48 a 72 horas, es recomendada en diferentes normas y opiniones de expertos. Sin embargo, deben cumplirse las condiciones adecuadas para el cultivo, ya que *Streptococcus pyogenes* es una bacteria de difícil aislamiento y se deben tomar todas las precauciones para evitar reportar resultados erróneos.

La evaluación de la prueba inmunocromatográfica (Strep Aim Germaine) ®, utilizando el cultivo en agar sangre como gold estándar, mostró su eficacia, porque se observó un mayor número de aislamientos y diagnósticos de *Streptococcus pyogenes* beta hemolítico, lo que coincide con otros estudios de Peñaranda<sup>1</sup>, que encontró una prevalencia de 65% en pacientes pediátricos, en el documento de consenso sobre el diagnóstico y tratamiento de Piñero<sup>4</sup>, muestran valores más altos, a diferencia de este estudio que encontró 4,5% de prevalencia, lo cual indica que el mayor porcentaje de los casos de faringitis y faringoamigdalitis de este estudio probablemente fueron virales.

En adultos, se encontró la prevalencia de 14,3%, que está un poco alto con relación a los datos emitidos por el consenso sobre el diagnóstico y tratamiento de Piñero<sup>4</sup>, en el artículo de Lara<sup>6</sup> y la actualización en el tratamiento antibiótico de las infecciones agudas respiratorias<sup>7</sup>, que nos muestran valores menores al

10% de prevalencia, recalcando que la mayoría de los estudios se realizó principalmente en el grupo pediátrico. De los 85 pacientes atendidos para cultivos de hisopado faríngeo procesados en la población estudiada, *Streptococcus pyogenes* fue aislado en un 10,6 % (Tabla 2).

La prueba inmunocromatografica (Strep Aim Germaine) ®, mostró una excelente especificidad y valor predictivo positivo obteniéndose los resultados a los 10 minutos de la corrida cromatográfica, según señala su metodología. El 100 % de especificidad alcanzado, nos indica que no se encontraron resultados falsos positivos, que la prueba inmunocromatografica no detectó antígeno de *Streptococcus pyogenes* beta hemolítico cuando el medio de referencia tampoco lo detecto y esto debido a que se utilizan pruebas complementarias que apoyan al cultivo (tinción Gram, catalasa, bacitracina, TMS y PYR) que son fundamentales para la identificación de *Streptococcus pyogenes*. La prueba inmunocromatografica presentó un valor predictivo positivo del 100% que muestra que la probabilidad de los pacientes de tener una faringoamigdalitis estreptocócica es del 100% cuando el resultado de la prueba es positivo.

La prueba inmunocromatografica (Strep Aim Germaine) ®, presentó los valores de sensibilidad de 88,9 % y valor predictivo negativo de 98,7%, observándose solo un caso de resultado falso negativo, aunque no es alto ni muy significativo, el problema se presenta cuando existe una complicación de la infección la cual generalmente es severa, y su tratamiento es muy costoso y por tiempos muy prolongados.

En cuanto a la susceptibilidad, se observa que las 9 cepas aisladas de *S. pyogenes* presentan sensibilidad a la penicilina, eritromicina y clindamicina, según las tablas de interpretación de la CLSI del 2014, a diferencia de otros estudios en los cuales se describen porcentajes de resistencia a la eritromicina de 23,5% y clindamicina 0,8%, según Rodríguez<sup>15</sup> en su trabajo de Infecciones respiratorias altas, en el presente trabajo no se encontró resistencia a estos antibióticos, probablemente porque el número de cepas es baja y la

probabilidad de encontrar cepas resistentes, requiere un mayor número de cepas de estudio, ya que el Laboratorio INLASA, en su reporte de vigilancia epidemiológica de resistencia a los antimicrobianos ya describe la presencia de resistencia de 3 a 5% a la eritromicina en Bolivia. Una de las razones por las cuales las cepas son sensibles podría ser, que en general los adultos no reciben tanto antimicrobiano como la población pediátrica, quienes por numerosos episodios infecciosos reciben con mayor frecuencia tratamientos antimicrobianos..

Cabe resaltar que los resultados obtenidos de los pacientes adultos (mayores de 15 años), muestra una prevalencia alta con relación a las expresadas en la literatura revisada y los pocos estudios que se encuentran publicados sobre faringitis por *Streptococcus pyogenes* en adultos, siendo esta información un gran aporte de este trabajo.

### 4.3. CONCLUSIONES.

Por los resultados obtenidos en el presente estudio se concluye que:

La prevalencia de *S. pyogenes* en faringitis y faringoamigdalitis nos muestra un nuevo criterio principalmente en el grupo etareo de los adultos (mayores de 15 años) en los cuales se describe la prevalencia mayor a la remitida por la literatura, lo que con lleva a continuar con esta investigación.

La prueba inmunocromatográfica (Strep Aim Germaine) ®, es una técnica rápida, resultados en 10 minutos, y de fácil ejecución.

La evaluación de la Especificidad y Valor Predictivo Positivo de la prueba rápida nos muestra excelentes resultados, alcanzado los valores altos en ambos casos.

Nuestros resultados muestran que la prueba inmunocromatográfica (Strep Aim Germaine) ®, es buena y aconsejable para el uso en el diagnóstico rápido de las faringitis y faringoamigdalitis *Streptococcicas*, por su rapidez en la realización y por sus excelentes valores de sensibilidad, especificidad y valores predictivos, pese a sus limitaciones en los falsos negativos que son en porcentaje bajo, que deberían ser confirmados por el cultivo en agar sangre.

#### 4.4. RECOMENDACIONES.

- ✓ Que el personal médico de salud solicite el cultivo o la determinación de la prueba rápida inmunocromatográfica, ante un diagnóstico clínico de faringitis y faringoamigdalitis, para no iniciar un tratamiento antimicrobiano inadecuado o innecesario y de esta forma minimizar los efectos adversos de los antimicrobianos administrados y la posible resistencia que esta puede generar. También para reducir la transmisión de la infección y fundamentalmente para prevenir las posteriores complicaciones de la infección por *Streptococcus pyogenes*.
- ✓ Incluir en la rutina de trabajo de los laboratorios la realización de la prueba rápida inmunocromatográfica y en caso de resultado negativo de esta prueba, continuar con el cultivo y de esta manera evitar reportar resultados falsos negativos principalmente.
- ✓ Realizar un estudio de susceptibilidad bacteriana de *Streptococcus pyogenes* a antimicrobianos como eritromicina, clindamicina, a pesar que en esta investigación no presentan resistencia, es necesario realizar una vigilancia pues se ha descrito un aumento de la resistencia en los últimos años.

## 5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Peñaranda I, Peñaranda M. [Internet]. Rapid test for detection of *Streptococcus pyogenes* in pharyngitis. Policlínico "Sucre" Caja Nacional de Salud. [Actualizado en: abril de 2012 ] [Citado en: mayo 2014]. Disponible en:  
[www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S1024-06752012000100003](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S1024-06752012000100003).
2. Gonzales M, Mamani P. Determinación de la presencia de agentes bacterianos y su susceptibilidad antimicrobiana en IRAs en la Clínica "Caja Petrolera de Salud". [Tesis de licenciatura en Bioquímica] La Paz: Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de bioquímica; 2007.
3. Valencia IK. Evaluación de medios de cultivos para el aislamiento de *Streptococcus pyogenes* en pacientes con diagnóstico clínico de faringoamigdalitis que acuden al laboratorio del SELADIS durante los meses de julio a diciembre del 2008 [Tesis para optar el título de especialista en Microbiología] La Paz; SELADIS; 2010
4. Piñeiro R, Hijano H, Alves F, Fernández A, Landaluce J, Silva J. Documento de consenso sobre el diagnóstico y tratamiento de la faringoamigdalitis aguda. *An Pediatr (Barc)*, 2011; 75(5): 342.e1-342.e13..
5. Flores G, Conejero, J, Grezner E, Baba Z, Dicono S, Echazabal M. Diagnóstico precoz de faringitis estreptocócica en pediatría: validación de una técnica antigénica rápida. *Aten Primaria*; 2010; 42(7): 353-363..
6. Lera C, Fernandez M. [Internet]. Validación de un test de detección rápida para el diagnóstico de faringitis estreptocócica en un servicio de urgencias. IX curso de infectología. [Actualizado en febrero 2010]. [Citado en mayo 2014]. Disponible en:  
[http://es.scribd.com/165117\\_3221\\_76756cd1-31f9-4a45-b9f5-2086aa6f48.pdf](http://es.scribd.com/165117_3221_76756cd1-31f9-4a45-b9f5-2086aa6f48.pdf)
7. Arteaga B, Onostre G. Faringoamigdalitis. Estudio clínico y bacteriológico en niños de 3 a 14 años. *Rev. Soc. Bol. Ped.* 1998;37(3): 99-103.

8. Chavez C, Livia C, Muñoz G, Otitiano G, Lujan V. Evaluación comparativa de agar sangre de carnero y agar sangre humana en el aislamiento de *Streptococcus beta hemolíticos*. Rev.Med.Vallejiana. 2006;4(2):148-154.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S24 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. January 2014.
10. Loncón G, Ullrich C, Yucra L. *Streptococcus pyogenes*. [Internet]. Silva Marco; [noviembre 2007]. [Febrero 2014]. Disponible en: <http://streptococcus-pyogenes4.blogspot.com/>
11. Información farmacoterapéutica de la comarca. [Internet]. Actualización en el tratamiento antibiótico de las infecciones respiratorias agudas. 2009 [Citado en 10 de Mayo 2014] Disponible en: <http://www.osakidetza.euskadi.net/cevime>
12. Coria R., López Y., Xochihua L. y Tato P. Bacteriología Clínica. Mexico: Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. 2006. 220-227.
13. Taboada C. *Streptococcus pyogenes*, identificación y patrón de sensibilidad en niños. 2010. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/2924180/6/STREPTOCOCCUS-PYOGENES>.
14. Organización Panamericana de la Salud. Control de la difteria, el tétanos, la tos ferina, las infecciones por *Haemophilus influenzae* tipo b y la hepatitis B: guía práctica. Washington DC: OPS, 2006
15. Cofre F, Rodríguez J. [Internet]. Faringoamigdalitis aguda. Rev Chil Pediatría 2005;2(3). [Citado en 15 de Mayo 2014] Disponible en: <http://www.scielo.cl>
16. Álvez F, Sánchez J. [Internet]. Faringoamigdalitis aguda. Protocolos de Infectología de la Asociación Española de Pediatría. [actualizado junio 2010] [Citado en 10 de mayo 2014]. Disponible en: <http://www.aeped.es/documentos/protocolos-infectologia>.

17. Cenjor C., García J. Ramos A., Cervera J., Tomás M., Asensi F., et al. Tratamiento antimicrobiano de la faringoamigdalitis. *Acta otorrinolaringológica esp* 2003; 54: 369-383.
18. Rodríguez G. Géneros Streptococcus y Enterococcus. [Internet] (2008). *Temas Bacteriología y Virología Médica*; [Citado en 20 de mayo de 2014]. Disponible en:  
<http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/StreptococcusyEnterococcus.pdf>
19. Fica A. Manejo de la Faringoamigdalitis Estreptocócica en Pacientes Adultos o Adolescentes. *Rev Chil Infect* 2002; 19(2): 79-91. Disponible en: <http://www.scielo.cl>.
20. Lancefield RC. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J Exp Med* 1996; 57: 571-595. Disponible en: <http://www.jcm.asm.org>.
21. Koneman E, Allen S, Dowell V, Janda W, Sommers H, Winn W. *Diagnostico microbiológico*. 6 ed. Buenos Aires: Panamericana. 2006.
22. Bisno A, Alternate complement pathways by group A streptococci: role of protein M *Infect Immun*. 1979;6:1172-1176 Disponible en <http://www.medscape.com/medline>.
23. Murray P. Rosenthal K., Kobayashi G. *Estreptococos, Microbiología medica*, 3 ed. Buenos aires: Mosby, 1998.
24. Pahisa B, Pigran S, Capdenla J, Almirante G. Infecciones Estreptocócicas. *Medicine Barcelona* 2001; 7 (788):3599-3604.
25. Brooks G, Butel J, Morse S. *Microbiología medica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. 17 ed. México DF: Manual moderno, 2002.
26. Gobernado M. Faringoamigdalitis en el adulto. *Rev Esp Microbiología*. 2002;11(2):105-109.
27. Braun S. Estudio Microbiológico del Tracto Respiratorio Superior. *Rev Chil Infect* 2003; 20(3): 193-198. Disponible en <http://www.scielo.cl>
28. Ulloa M, Becker L, Robles M, Giglio M, Camponovo R. Comparación de StrepA y cultivo tradicional en el diagnóstico de Streptococcus b hemolítico grupo A. XXI Congreso Chileno de Microbiología, Asociación Chilena de Microbiología 1999.

- 29.**Lopardo H, Hernandez C, Soloaga R. Diagnostico Microbiologico de las infecciones respiratorias bacterianas. *Rev Arg Microb.* 2000;15: 5–10
- 30.**Shulman S. Evaluation of penicillin, cephalosporin and macrolides for therapy on streptococcal pharyngitis. *Pediatrics* 1999;97:955-959. Disponible en <http://www.medscape.com/medline>
- 31.**Rossanna C. Problemas de resistencia en *Streptococcus pyogenes*. *Rev Chil Infect* 2002. 19 (2): 107-110. Disponible en <http://www.scielo.cl>
- 32.**Muñoz S, Córdova M, Morales V, Cifuentes L. Faringitis Aguda, Estreptocócica. *Rev Chil Infect* 2005; 22(2): 147–153. Disponible en <http://www.scielo.cl>

# ANEXOS

**ANEXO 1.**

**FORMULARIO DE REGISTRO Nº 1**

**Nombre:**.....

**Edad:**..... **Fecha** **toma** **de**

**muestra:**.....

**Uso de antibióticos:**.....**Ultima fecha de uso de atb:**.....

**Frecuencia de uso:**.....**Sexo:**.....

**Tipo de garganta:**.....**Fuma:**.....

**Diagnostico presuntivo:**.....

**Resultados:**

Tinción de Gram:.....

**Cultivo Agar sangre:**

**Prueba rápida (Strep Aim Germaine)**

**Antibiograma: Eritromicina**

**Clindamicina**

**Cotrimoxazol**

**Penicilina**

**Tetraciclina**

**Observaciones:**.....

.....

**ANEXO 2.****CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo soy Jorge Rodríguez Flores Bioquímico del laboratorio del SSUP, y estamos investigando sobre la enfermedad de la faringitis que es muy común en este país. Le voy a dar información e invitarle a participar de esta investigación. No tiene que decidir hoy si participar o no en esta investigación. Antes de decidirse, puede hablar con alguien que se sienta cómodo sobre la investigación. Puede que haya algunas palabras que no entienda. le informo sobre el tema y si tiene preguntas más tarde, podrá realizármelas, o al doctor que le está atendiendo.

Esta investigación incluirá una única toma de muestra en su garganta con 2 hisopos estando usted en ayunas y a primera hora de la mañana.

Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria. Usted puede elegir participar o no hacerlo. Tanto si elige participar o no, continuarán todos los servicios que reciba en esta clínica y nada cambiará. Usted puede cambiar de idea más tarde y dejar de participar aún cuando haya aceptado antes.

El conocimiento que obtengamos por realizar esta investigación se compartirá con usted antes de que se haga disponible al público. No se compartirá información confidencial. Después, se publicarán los resultados para que otras personas interesadas puedan aprender de nuestra investigación.

Yo....., con CI:..... Acepto y estoy de acuerdo con todo lo anteriormente mencionado, habiendo recibido toda la información y las características de la toma de muestra y lo que corresponde posteriormente a la realización de la investigación y sus publicaciones.

Por lo cual, firmo al pie del presente documento:

**Firma (Paciente o apoderado)**

### **ANEXO 3.**

#### **PREPARACION DE AGAR SANGRE CON SANGRE HUMANA:**

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.

Medios y reactivos:

Medio de cultivo sólido Agar soya tripticasa (Britania)

Sangre humana (Paquete globular citratado de bolsa ACD)

Preparación:

En un matraz Erlenmeyer disolver una proporción de 40 gramos/litro de medio de cultivo sólido Agar soya tripticasa (Britania) con agua destilada o desionizada y disolver completamente calentando en hornilla.

El medio de cultivo ya disuelto se esteriliza en autoclave 15 minutos a 121 C y una presión de 1 Kg/cm.

Una vez autoclavados el medio se traslada a una zona estéril, para enfriarlo lentamente a una temperatura que oscila entre los 45 C +/-2 C.

Incorporar 5 % de Sangre humana (Paquete globular citratado), homogenizar completamente y dispensar un volumen de 24 mL de medio por caja petri estéril.

Guardar los medios en refrigeración a 4 C .El medio de cultivo preparado antes de la adición de sangre es claro y amarillo parduzco, posteriormente a la adición de sangre es del color de la misma.

Finalmente se incuba de 35 a 37 C por 24 horas una caja petri de medio de cultivo del lote preparado, como control de esterilidad.

## **ANEXO 4**

### **PREPARACION DE AGAR MUELLER HINTON CON SANGRE HUMANA AL 5%:**

Es un medio de cultivo para la realización de sensibilidad y resistencia por método de difusión en discos, el método de Kirby-Bauer modificado para antibiograma de Streptococcus del grupo "A"

Medios y reactivos:

Medio de cultivo solidó Agar Mueller Hinton (Britania)

Sangre humana (Paquete globular citratado de bolsa ACD)

Preparación:

En un matraz Erlenmeyer disolver una proporción de 47 gramos/litro de medio de cultivo solidó Agar Mueller Hinton (Britania) con agua destilada o desionizada y disolver completamente calentando en hornilla.

El medio de cultivo ya disuelto se esteriliza en autoclave 15 minutos a 121 C y una presión de 1 Kg/cm.

Una vez autoclavados el medio se traslada a una zona estéril, para enfriarlo lentamente a una temperatura que oscila entre los 45 C +/-2 C.

Incorporar 5 % de Sangre humana (Paquete globular citratado), homogenizar completamente y dispensar un volumen de 24 mL de medio por caja petri estéril.

Guardar los medios en refrigeración a 4 C .El medio de cultivo preparado antes de la adición de sangre es claro y amarillo pálido, posteriormente a la adición de sangre es del color de la misma.

Finalmente, se incuba de 35 a 37 C por 24 horas una caja petri, de medio de cultivo del lote preparado, como control de esterilidad.

## ANEXO 5

### TINCION DE GRAM:

Es una tinción diferencial usada para demostrar las propiedades tintoriales de bacterias de todos los tipos según la pared celular que estas presenten. Las bacterias gram positivas retienen la violeta de genciana después de la decoloración, las bacterias gram negativas no son capaces de retener este colorante.

Batería para tinción de Gram:

#### VIOLETA DE GENCIANA

85 % violeta de genciana

55 % alcohol

H<sub>2</sub>O csp. 90 ml

4.5 g oxalato de amonio

#### LUGOL

1 g yodo

2 g yoduro de potasio

100 ml H<sub>2</sub>O

#### ALCOHOL-ACETONA

50 ml acetona

50 mL etanol (95%)

#### FUCSINA BASICA

3 g fucsina básica

100 ml etanol (95%)

H<sub>2</sub>O csp. 1000 ml

**Procedimiento:**

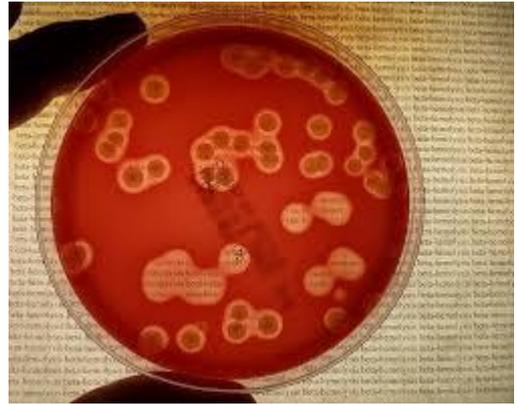
Se coloca el frotis sobre un soporte para tensión y se cubre la superficie con solución de violeta de genciana, se deja 1 minuto y se lava con agua.

Se cubre el frotis con solución de yodo durante 1 minuto y se lava con agua.

Se cubre el frotis con solución decolorante alcohol-acetona, dejándolo 1 minuto y se lava con agua.

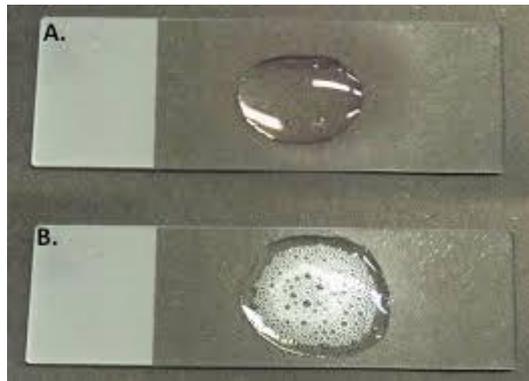
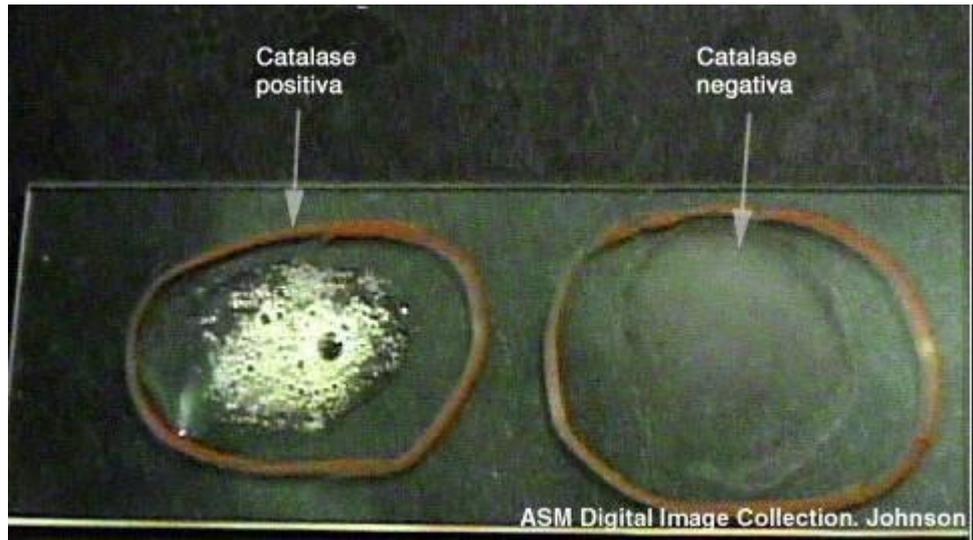
Se cubre el frotis con fucsina básica y se deja actuar por 1 minuto.

Se examina el frotis teñido con aceite de inmersión con el objetivo de 100X del microscopio.

**ANEXO 6****HEMOLISIS OBTENIDA EN EL AGAR SANGRE EN EL CULTIVO DE *S. PYOGENES*.**

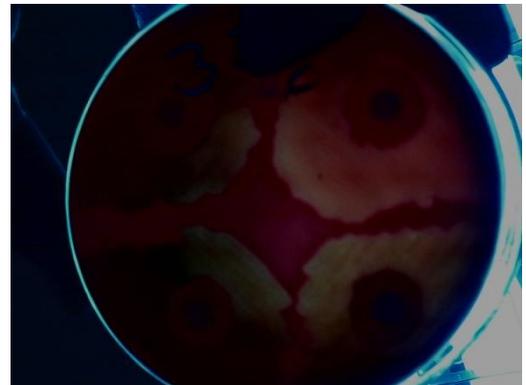
**ANEXO 7**

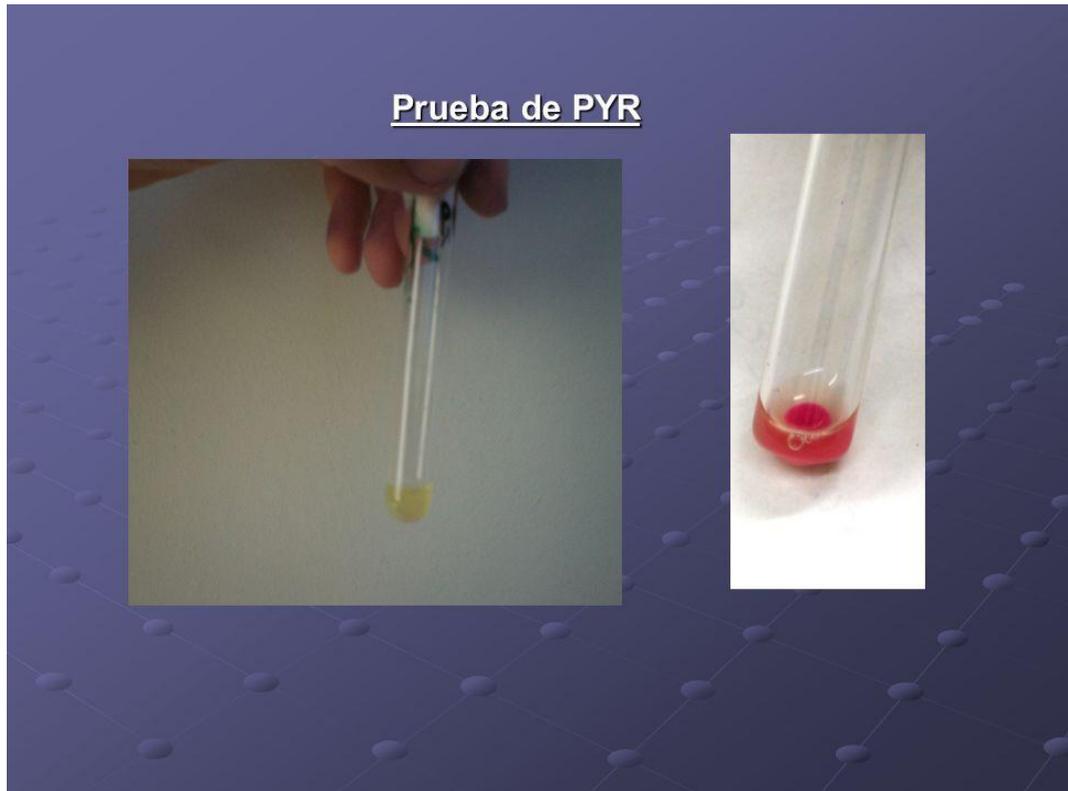
**PRUEBA DE LA CATALASA:**



**ANEXO 8**

**PRUEBA DE LA BACITRACINA**



**ANEXO 9****PRUEBA DE PYR**

ANEXO 10

PRUEBA RAPIDA DE INMUNOCROMATOGRAFIA STREP AIM GERMAINE



**ANEXO 11**

**EQUIPOS UTILIZADOS:**



