

17 | Géneros Streptococcus y Enterococcus

G. Rodríguez

Los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* están formados por bacterias esféricas u ovoides que crecen en pares o cadenas de longitud variable. La mayoría son anaerobios facultativos, existiendo algunas especies anaerobios obligados. Son Gram positivos, no formadores de esporos, catalasa negativos e inmóviles, y tienen complejos y variables requerimientos nutricionales.

La infección estreptocócica es una de las más frecuentes, siendo algunos de los cuadros más importantes relacionados con el género: amigdalitis aguda, otitis media, sinusitis, neumonía, meningitis, infección del tracto urinario, infección abdominal o cutánea, etc.

Las infecciones más frecuentemente asociadas con el género *Enterococcus* son la endocarditis, las infecciones urinarias y la colonización o sobreinfección de enfermos que reciben tratamiento con antimicrobianos, especialmente cefalosporinas.

Taxonomía

No existe un sistema de clasificación sencillo para diferenciar este heterogéneo grupo de microorganismos y la misma está sometida a revisión constante. Por el contrario, la clasificación depende de una combinación de características, incluyendo: patrón de hemólisis en placas de agar sangre, composición antigénica, características de crecimiento, reacciones bioquímicas y, más recientemente, análisis genético. La tecnología de hibridación del DNA ha revolucionado la taxonomía, poniendo de manifiesto que los enterococos son tan diferentes del resto de los estreptococos, que constituyen un nuevo género, ubicado dentro de la familia Enterococcaceae.

Cuando los estreptococos son cultivados en agar sangre se puede observar, además de la morfología macroscópica característica de cada cepa, la presencia de un halo transparente alrededor de la colonia donde los glóbulos rojos han sido completamente lisados. Este patrón es designado hemólisis de tipo beta y es de considerable importancia ya que la exhibe *Streptococcus pyogenes* y muchos otros *Streptococcus* patógenos humanos. Un segundo grupo de microorganismos, produce hemólisis parcial o hemólisis alfa, observándose como un halo verdoso alrededor de la colonia; perteneciendo a este grupo *S. pneumoniae* así como otros *Streptococcus* que habitan el tracto respiratorio superior y gastrointestinal del hombre. Finalmente, el término hemólisis gamma se utiliza para designar aquellas especies que no producen hemólisis, aunque el término estreptococo no hemolítico es preferible.

Una identificación más precisa de los estreptococos betahemolíticos fue creada por Rebecca Lancefield. Esta clasificación en serogrupos esta basada en las diferencias antigénicas

de los carbohidratos de la pared celular. Los antígenos de grupo son rápidamente extraíbles de la pared celular e identificables por reacciones de precipitación usando antisueros específicos. Los estreptococos que carecen de antígeno de grupo reconocible son identificados por características fenotípicas (reacciones de fermentación, producción de enzimas) y por hibridación del DNA.

En la actualidad se reconocen aproximadamente 30 especies de *Streptococcus*; siendo algunas de las especies de mayor importancia en patología humana: *S. pyogenes* (estreptococo del grupo A), *S. agalactiae* (estreptococo del grupo B), y *S. pneumoniae* (neumococo).

Principales serogrupos de *Streptococcus* en enfermedad humana.

Serogrupo	Antígeno grupo específico de la pared celular	Aspectos clínicos
A	Ramnosa-N-acetil-glucosamina	Faringitis, amigdalitis, escarlatina, erisipela, impétigo, celulitis, secuelas no supurativas: fiebre reumática, glomerulonefritis
B	Ramnosa-glucosamina	Corioamnionitis, sepsis puerperal y neonatal, meningitis neonatal
C	Ramnosa-N-acetil-galactosamina	Infecciones respiratorias altas
D	Ácido glicerol teicoico	Infecciones del tracto genitourinario, heridas, endocarditis
G	Ramnosa-galactosamina	Infecciones respiratorias altas, celulitis, sepsis

Streptococcus pyogenes

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 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 (FR) y glomerulonefritis difusa aguda postestreptocócica (GNDA).

CARACTERES MICROBIOLÓGICOS

Streptococcus del grupo A (SgA) se presenta microscópicamente como células esféricas u ovoides de 0.6-1.0 μm de diámetro y se agrupa en pares o cadenas de longitud variable en muestras clínicas, o cuando crece en medios líquidos enriquecidos con suero o sangre. Son, al igual que el resto de los estreptococos, Gram positivos, inmóviles, no formadores de esporos, catalasa negativos y, facultativamente anaerobios. SgA es exigente desde el punto de vista nutricional, requiriendo medios complejos 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).

Se han identificado un gran número de componentes estructurales y productos extracelulares en SgA. A continuación serán reseñados los más importantes.

COMPONENTES CELULARES

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

- b) El carbohidrato específico de grupo (carbohidrato C) está constituido por un dímero de ramnosa y N-acetil glucosamina.
- c) 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.
- d) La proteína M es uno de los principales factores de virulencia de SgA. 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. SgA puede ser dividido en serotipos basándose en las diferencias antigénicas de la molécula de proteína M. Alrededor de 80 serotipos son reconocidos actualmente. La inmunidad adquirida contra la infección estreptocócica está basada en el desarrollo de anticuerpos opsonizantes dirigidos contra la porción antifagocítica de la molécula de proteína M. Tal inmunidad es tipo-específica y permanece por varios años, tal vez indefinidamente. En algunos casos se ha demostrado protección cruzada por anticuerpos de un serotipo contra organismos de un serotipo heterólogo. La proteína M es una macromolécula filamentososa que se encuentra como un dímero estable con una estructura alfa helicoidal. Se encuentra anclada a la membrana celular y atraviesa la pared celular. La porción proximal de la molécula contiene epítopes conservados en todos los SgA, mientras que la porción distal contiene epítopes tipo-específicos. Esta configuración localiza el sector tipo-específico en la punta de las fibrillas, protruyendo en la superficie celular (figura 1). En el huésped no inmune, la proteína M ejerce su efecto antifagocítico al inhibir la activación de la vía alterna del complemento en la superficie celular. Este efecto es mediado, en parte, por la habilidad de la proteína M de precipitar fibrinógeno directamente en la superficie bacteriana. El efecto antifagocítico es anulado en presencia de concentraciones adecuadas de anticuerpos tipo-específicos.
- e) El factor de opacificación del suero (FO), 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 SgA tipificables por la proteína M poseen este factor. El FO es antigénico y tipo-específico, es decir que su habilidad para opacificar el suero puede ser inhibida por anticuerpos homólogos y no heterólogos de proteína M. Esta sustancia es importante principalmente por dos razones:
 - es un marcador epidemiológico muy útil que ayuda en la clasificación de los estreptococos cuando no es detectable por el tipo de proteína M.



Figura 1.

- la respuesta tipo-específica y no tipo-específica a la proteína M es generalmente más débil después de una infección faríngea con FO positivo que con serotipos FO negativos.
- f) Las proteínas T y R constituyen otro complejo antigénico que no intervienen en la patogenicidad del microorganismo, pero son de utilidad para completar la tipificación de *Streptococcus*, especialmente en las cepas no identificables por la proteína M.
- g) La proteína F, no fibrilar, juega un rol crítico en el primer paso de la colonización, que es la adherencia de SgA a la molécula de fibronectina, glucoproteína situada en la superficie de las células epiteliales humanas. El ácido lipoteicoico formado por unidades de poliglicerol fosfato unidas a lípidos, podría jugar también un rol en la adherencia, en asociación con proteínas de superficie.
- h) Recientemente se ha descrito una peptidasa unida a la célula que cliva el componente C5 del complemento e inhibe la quimiotaxis de los neutrófilos *in vitro* e *in vivo*.

PRODUCTOS EXTRACELULARES

Durante el desarrollo *in vivo* e *in vitro*, SgA elabora numerosos productos extracelulares, pero solamente un número limitado de ellos han sido bien caracterizados. Algunos poseen carácter antigénico, y la determinación de anticuerpos frente a ellos se utiliza para establecer el diagnóstico de infección estreptocócica reciente.

- a) Hemolisinas: existen dos tipos de hemolisinas elaboradas por SgA 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 SgA (así como por algunos organismos de los grupos C y G), y es antigénica. La titulación de los anticuerpos antiestreptolisina O (AELO) en suero humano ha probado ser una prueba útil como indicador de infección estreptocócica reciente. La estreptolisina S es una hemolisina producida por los estreptococos en presencia de suero (de ahí "S") o en presencia de una variedad de otras sustancias tales como albúmina, alfa-lipoproteína, RNA. La estreptolisina S no es antigénica. Tiene la capacidad de dañar la membrana de leucocitos, plaquetas y organelos subcelulares. No es inactivada por el oxígeno pero es termolábil. Dadas las características de ambas hemolisinas se observa que la hemólisis en la superficie de las placas de agar es debida primariamente a estreptolisina S, en tanto la hemolisina O exhibe su efecto en la profundidad del agar debajo del desarrollo bacteriano.
- b) La exotoxina pirogénica estreptocócica (SPE), antes conocida como toxina eritrogénica, es responsable del rash de la fiebre escarlatina. Experimentalmente, esta sustancia exhibe una variedad de otras propiedades tóxicas incluyendo pirogenicidad, citotoxicidad, y aumento de la susceptibilidad a los efectos letales de la endotoxina. La producción de toxina está inducida por la presencia de un fago temperado en fase lisogénica. Se conocen 10 toxinas serológicamente diferentes (A-J), cuyos efectos pueden ser neutralizados por anticuerpos. Se trata de exotoxinas que actúan como superantígenos, es decir, productos que estimulan de modo intenso e inespecífico el sistema inmune.
- c) Muchos productos extracelulares, pueden teóricamente, favorecer la licuefacción del pus y la diseminación de los *S. pyogenes* a través de los diferentes planos tisulares. 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.
- d) Otros productos extracelulares son: NADAsas, proteinasa, amilasa y esterasa.

La mayoría de las sustancias recientemente enumeradas son antigénicas y los anticuerpos para cinco de estos productos han sido usados para serodiagnóstico de infección por SgA. Ellos son: anti-DNAsa, AELO, antihialuronidasa, anti-NADAsa y anti-estreptoquinasa.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las dos manifestaciones clínicas de las infecciones por SgA son la faringitis y la piodermis.

Faringoamigdalitis estreptocócica

La infección faringoamigdalar aguda es uno de los motivos de consulta más frecuentes en la práctica clínica. La misma puede ser de etiología viral o bacteriana. Dentro de estas últimas SgA es responsable de la mayoría de estas infecciones aunque otros serogrupos pueden ocasionarla (grupos C y G). Es una enfermedad autolimitada, aunque debe siempre realizarse el tratamiento antimicrobiano para prevenir las complicaciones, y 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.

La fiebre escarlatina es debida a la infección estreptocócica con una cepa que elabora la exotoxina pirogénica. Esta enfermedad está generalmente asociada a faringitis, aunque puede seguir a otras infecciones estreptocócicas tales como heridas.

Las complicaciones de la faringitis causada por el SgA se pueden dividir en supurativas y no supurativas. Las complicaciones supurativas se observan con poca frecuencia desde el advenimiento de antibioticoterapia efectiva. Entre ellas se citan: absceso y celulitis periamigdalinos, otitis media, sinusitis. Las complicaciones no supurativas son la fiebre reumática (FR) y la glomerulonefritis difusa aguda (GNDA), que reseñaremos más adelante.

El diagnóstico etiológico se efectúa a través del cultivo del exudado faríngeo. En caso de existir simultáneamente fiebre escarlatina el diagnóstico se facilita.

El tratamiento está dirigido a prevenir la FR y las complicaciones supurativas. La prevención de la fiebre reumática requiere de la erradicación de la infección por SgA de la faringe, lo cual depende de un tratamiento prolongado más que de altas dosis de antibiótico. SgA es hasta el presente homogéneamente sensible a la penicilina, antibiótico de probada eficacia en la prevención de la FR. Se utiliza penicilina G benzatina 1.2 millones de unidades y para niños que pesan menos de 30 kg, 600.000 U. En pacientes alérgicos a la penicilina se administra eritromicina. Según datos actuales pueden también ser útiles nuevos macrólidos (azitromicina, claritromicina). Los regímenes vía oral deben mantenerse por 10 días. Aproximadamente un 15% de individuos quedan como portadores luego del tratamiento.

Piodermitis

Con este término se designan colectivamente las infecciones estreptocócicas localizadas de la piel.

Impétigo: es una infección cutánea superficial, caracterizada por la aparición de vesículas, de 1-2 mm, que rápidamente evolucionan a costras de color ambarino, pruriginosas y acompañadas de adenopatías satélites. La localización más frecuente es en las extremidades. El SgA que causa impétigo difiere de aquellos que ocasionan faringoamigdalitis, perteneciendo a diferentes serotipos M. Los aislamientos a partir de las lesiones de piel son primariamente pertenecientes al grupo A, pero ocasionalmente se encuentra otros serogrupos como responsables (C y G).

La respuesta inmune AELO para las infecciones cutáneas difiere de la respuesta en casos de infección faríngea, siendo más débil. Hay evidencias experimentales que sugieren que esto podría deberse a la inactivación local de la estreptolisina O por los lípidos cutáneos. Por el contrario, la respuesta anti-DNAse y anti-hialuronidasa están conservadas y son útiles para el diagnóstico serológico.

Tratamiento y profilaxis: existen gran número de antimicrobianos orales efectivos en el tratamiento del impétigo. Entre ellos se incluyen penicilina V, cefalosporinas de primera generación, eritromicina, etc. El tratamiento tópico con mupirocina tiene altas tasas de curación, pero es caro. No menos importantes son las medidas de higiene personal, que constituyen la medida profiláctica más importante.

INFECCIONES INVASIVAS DE PIEL Y PARTES BLANDAS

Desde mediados de la década de 1980, se observa un cambio epidemiológico en las infecciones invasivas ocasionadas por SgA, coexistiendo con la reaparición de ciertas cepas de SgA correspondientes a determinados serotipos M, observándose un aumento en la severidad y frecuencia de las mismas. Afectan mayoritariamente a adultos, y la puerta de entrada es generalmente cutánea. En algunos casos, la infección lleva al shock y fallo multiparenquimatoso, pareciéndose en ciertos aspectos al síndrome del shock tóxico estafilocócico. Por lo que se ha designado a esta entidad como síndrome del shock tóxico estreptocócico (SST). A continuación se hará una breve reseña de las infecciones estreptocócicas severas de piel y partes blandas y del SST.

Erisipela

Es una inflamación aguda de la piel con marcada afectación del drenaje linfático, que es causada por SgA. Su frecuencia ha aumentado en los últimos años. Puede afectar cara, extremidades o tronco. Se acompaña de síndrome toxiinfeccioso. El tratamiento con penicilina es curativo.

Celulitis estreptocócica

Es una inflamación aguda y extendida de la piel y el tejido subcutáneo, que puede seguir a quemaduras, heridas o incisiones quirúrgicas. Se diferencia de la erisipela porque la lesión no está limitada y no existe una demarcación entre la zona de piel afectada y no afectada. Otros agentes pueden ser causa de celulitis, pero la mayoría de los casos son debidos a SgA y *S. aureus*. Aunque la penicilina es una buena elección para la etiología estreptocócica, debido a que en las etapas iniciales es difícil la diferenciación etiológica desde un punto de vista clínico, se recomienda el uso de penicilinas semisintéticas resistentes a las penicilinasas, o vancomicina.

Fascitis necrotizante (gangrena estreptocócica)

Es una infección de las fascias y tejidos subcutáneos profundos, caracterizada por una necrosis rápida y extensa. En forma típica comienza por una lesión traumática, generalmente trivial, en la cual se puede presentar como un área eritematosa, que en un período de 24-72 horas tiene una rápida evolución. La inflamación se extiende y se intensifica, la piel se oscurece y se torna púrpura, y aparecen bullas de contenido hemorrágico. Se acompaña frecuentemente de bacteriemia y pueden presentarse abscesos metastásicos. El proceso tiene un curso inexorable a la agravación progresiva a menos que se tomen medidas específicas y rápidas para contenerlo. Las tasas de mortalidad son altas incluso con un tratamiento adecuado. El manejo adecuado de esta entidad depende de un correcto diagnóstico precoz. El estudio mediante tinción de Gram de exudados serosanguinolentos de las lesiones, puede ser útil si revela cocos Gram positivos en cadena. El diagnóstico diferencial entre celulitis y fascitis necrotizante es crucial, ya que, si bien en ambos casos el tratamiento requerirá de antibioticoterapia, el segundo requiere además de tratamiento quirúrgico, extensas debridaciones en algunos casos.

Síndrome del shock tóxico estreptocócico

En los últimos años se han descrito varios casos de SST en diferentes áreas del mundo, observándose en primera instancia en adultos y, posteriormente, en niños. Las cepas de SgA que causan SST se transmiten rápidamente de persona a persona y se observa un alto porcentaje de transmisión a contactos.

Patogenia: se ha encontrado una mayor frecuencia de determinados serotipos M en SST. Aunque no están aún dilucidados los mecanismos patogénicos, los estudios se enfocan actualmente a las exotoxinas pirogénicas estreptocócicas (SPE).

Además de provocar el rash en la escarlatina, las SPE tienen una variedad de efectos biológicos adversos observados en modelos animales, como alteración de diferentes órganos y shock. Se encontró una homología aminoacídica entre las SPE y las enterotoxinas B y C estafilocócicas. SPE es un superantígeno, y es un inductor muy potente del factor de necrosis tumoral (FNT). Además del serotipo M, otros factores se han encontrado asociados con las cepas de SgA responsables del SST, como calidad y cantidad de SPE y, recientemente, síntesis de una proteasa. Éstos y otros elementos son los responsables de la habilidad de estas cepas de invadir rápidamente los tejidos y el torrente circulatorio, y desencadenar la liberación de los factores mediadores de la cascada de la inflamación, responsables de la falla multiparenquimatosas.

La clínica puede estar entrelazada con los aspectos de la fascitis necrotizante que a menudo se asocian. Pero lo que lo caracteriza es la rápida evolución al shock, precedida de un cuadro leve localizado en un pequeño traumatismo, caracterizado por dolor local y eritema, que evoluciona a lesiones bullosas, acompañado por un síndrome febril. El shock se ve acompañado por fallo agudo de diferentes órganos: daño cerebral severo, insuficiencia renal, distrés respiratorio, miocardiopatía tóxica y disfunción hepática.

Desde el punto de vista del laboratorio, se observa la alteración multiparenquimatosas, y, a diferencia del shock de etiología estafilocócica, se encuentran los hemocultivos positivos en un 60% de los casos.

Para el tratamiento del paciente se requiere una unidad de cuidados intensivos y se debe realizar el soporte de las funciones vitales. Desde el punto de vista microbiológico se debe instituir una terapéutica antimicrobiana precoz, empírica al inicio, y una vez confirmada la etiología estreptocócica la penicilina G es el antibiótico de elección, aunque la misma es relativamente inefectiva cuando la concentración de microorganismos es alta. Actualmente

se está investigando también la eficacia de tratamientos que se dirijan al componente del hospedero en la patogenia de la enfermedad, es decir, interactuando con la respuesta inflamatoria (bloqueo periférico de la acción de interleucinas y el factor de necrosis tumoral).

COMPLICACIONES NO SUPURADAS

Fiebre reumática

La fiebre reumática (FR) 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. Sin embargo, puede ocurrir lesión valvular cardíaca, y este daño ser crónico y progresivo, conduciendo a falla cardiovascular, inhabilitación y, eventualmente, la muerte.

Patogenia: la FR es una secuela postestreptocócica posterior a una infección respiratoria alta debida a SgA. Esto está apoyado por varios hechos:

- Hay una relación temporal entre epidemias de infecciones faríngeas por SgA y epidemias de FR.
- La mayoría de pacientes con FR tienen un antecedente reciente de faringitis.
- En pacientes con FR se detectan anticuerpos anti-estreptocócicos que revelan infección reciente.
- El uso continuo de antimicrobianos profilácticos que disminuyen las faringitis por SgA recurrentes, se acompaña de una disminución de FR en pacientes con antecedentes de la misma.

La FR se asocia con infección faríngea por SgA, no así por infecciones cutáneas, y a su vez con determinados serotipos M que se llaman comúnmente “cepas reumatógenas”. Estas cepas tienen la característica de no poseer el factor de opacificación (FO) y de poseer una gruesa cápsula. Aunque SgA sea la causa de la FR, no está totalmente aclarado el mecanismo exacto por el cual el microorganismo induce la enfermedad, existiendo varias teorías al respecto:

- Efectos tóxicos de ciertos productos de SgA, particularmente las estreptolisinas S y O;
- Reacción tipo enfermedad del suero mediada por complejos Ag-Ac, tal vez localizados en los sitios de daño tisular;
- Fenómenos autoinmunes inducidos, tal vez, por la similitud o identidad entre ciertos Ag estreptocócicos y ciertas moléculas de los tejidos humanos.

Clínicamente tiene una presentación muy variada y no existe un test diagnóstico específico. Se presenta por una variedad de síntomas y signos que pueden ocurrir solos o en combinación. De acuerdo a su importancia diagnóstica se dividen en criterios mayores y menores. Criterios mayores: carditis, poliartritis, corea, nódulos subcutáneos, y eritema marginado. Criterios menores: fiebre, artralgia, falla cardíaca, reactantes de fase aguda (proteína C reactiva, velocidad de eritrosedimentación elevada, leucocitosis).

Desde el punto de vista diagnóstico, a los criterios recientemente analizados debemos sumarle la presencia de evidencia de infección estreptocócica reciente. Tal evidencia puede ser un episodio de faringitis estreptocócica documentado bacteriológicamente o la demostración de un título elevado de anticuerpos anti-estreptocócicos en suero. Este último estudio, si bien no permite hacer diagnóstico de FR, posibilita evidenciar la existencia de una infección por SgA reciente. Se realiza en suero la dosificación de AELO siendo considerado como indicador de infección reciente valores iguales o mayores a 200 unidades Todd. Se pueden dosificar también los anticuerpos anti-DNAse y anti-hialuronidasa.

Tratamiento y profilaxis: el tratamiento está destinado a disminuir la inflamación, disminuir la fiebre y control cardiovascular. En cuanto a la profilaxis es importante destacar

que los pacientes que han tenido FR tienen un riesgo elevado de repetir los episodios junto con cada infección faríngea por Sga, de modo que estos pacientes requieren una profilaxis continua para prevenir las infecciones recurrentes por estos microorganismos. Esta consiste en la administración de 1.2 millones de unidades de penicilina G benzatina administrada cada 4 semanas. En pacientes con alergia a la penicilina se administrará eritromicina estearato 250 mg dos veces al día. En cuanto a la duración de esta profilaxis continua existe gran controversia. Algunos grupos opinan que la misma no debe ser discontinuada hasta que el paciente cumpla 20 años. Otros grupos recomiendan que ésta se mantenga indefinidamente.

Por otra parte, se investiga intensamente en el desarrollo de una vacuna segura y efectiva en base a la proteína M para prevenir la infección por SgA. La misma debería ser polivalente, y poseer determinantes antigénicos que otorguen inmunidad tipo-específica y no contengan antígenos cruzados con tejidos humanos.

Glomerulonefritis difusa aguda (GNDA)

La GNDA es una afección aguda de los glomérulos renales que está caracterizada anatomopatológicamente, 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 SgA llamadas “nefritógenas” que pertenecen a serotipos determinados, diferentes de los relacionados con FR, siendo el más frecuente el serotipo 12. Al igual que en la FR, no se conoce el mecanismo exacto por el cual se produce la afección. Dado el período existente entre la infección y el desarrollo de GNDA, la presencia de hipocomplementemia, y que inmunoglobulinas y componentes del complemento están presentes en el riñón desde el inicio de la afección, existen grandes evidencias para adjudicar a un mecanismo inmunológico la causa de la injuria renal. La hipótesis más aceptada al respecto sugiere que el daño renal sería causado por el depósito de complejos inmunes compuestos por antígenos estreptocócicos y anticuerpos del huésped, a nivel del glomérulo.

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 SgA o por demostración de títulos elevados de Ac antiestreptocócicos. Se debe recordar que en las GNDA asociadas a piodermatitis los AELO no se elevan, por lo que se deben titular los anticuerpos anti-DNAse o anti-hialuronidasa.

Tratamiento y profilaxis: desde el punto de vista microbiológico los pacientes deben recibir penicilina G benzatina para erradicar las cepas nefritógenas, siendo este tratamiento sólo con propósitos epidemiológicos ya que no modificará el curso de la GNDA preexistente. A diferencia de la FR no se recomienda la profilaxis continua ya que son raros los episodios de GNDA recurrentes.

Streptococcus agalactiae

Streptococcus agalactiae o *Streptococcus* del grupo B (SgB), fue descrito como patógeno humano en 1935 por Fry en tres casos de fiebre puerperal.

CARACTERES MICROBIOLÓGICOS

SgB son cocos Gram positivos, anaerobios facultativos, exigentes, que en medios sólidos con sangre crecen formando colonias grisáceas de 3 a 4 mm de diámetro, rodeadas de un halo estrecho de beta-hemólisis. SgB poseen dos antígenos en la pared celular de naturaleza polisacárida, uno es el antígeno C específico de grupo, y otro es tipo-específico, la sustancia S

que permite la clasificación en cinco serotipos: Ia, Ib, Ic, II y III. Por fuera de la pared aparece rodeado de una cápsula de naturaleza polisacárida, que inhibe la fagocitosis. La cápsula del serotipo III en particular, inhibe la activación de la vía alterna del complemento, que participa en el proceso de opsonofagocitosis de estas bacterias. El ácido siálico constituye el residuo terminal de los serotipos Ia y III, y es responsable del efecto recién nombrado.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La asociación entre colonización del tracto genital materno en el momento del parto por SgB e infección neonatal invasiva temprana está bien establecida. Se describen en el recién nacido síndrome de dificultad respiratoria, meningitis, sepsis, otitis, empiema. En adultos, puede ser agente etiológico de infecciones urinarias, vaginales, y es muy importante como agente de sepsis puerperal. El diagnóstico microbiológico se realiza mediante aislamiento de SgB a partir de hemocultivos, líquido cefalorraquídeo o focos de supuración. Existen métodos rápidos de diagnóstico que consisten en la detección de antígenos capsulares en líquido cefalorraquídeo.

SgB es uniformemente sensible a las penicilinas y estas son el tratamiento de elección una vez establecido el diagnóstico etiológico. La prevención de la colonización del feto puede lograrse mediante la profilaxis con ampicilina durante el parto a las madres portadoras. No obstante la solución en un futuro próximo puede radicar en la inmunización activa con preparaciones de polisacáridos capsulares purificados.

Streptococcus betahemolíticos de los grupos C y G

En humanos se han aislado en infecciones faríngeas y cutáneas similares a las del grupo A. También se han descrito casos aislados de infección puerperal, sepsis, endocarditis y neumonía. Son sensibles a la penicilina, pero se han descrito cepas tolerantes.

Enterococcus y Streptococcus del grupo D

ENTEROCOCCUS

Los enterococos son cocos Gram positivos que se agrupan en pares o cadenas cortas. Pertenecían al grupo D de la clasificación de Lancefield junto con los no enterococos, que permanecen en el género *Streptococcus*.

Caracteres microbiológicos

Son anaerobios facultativos, capaces de desarrollar en condiciones extremas tales como NaCl 6.5%, pH 9.6 y a temperaturas que oscilan entre 10-45 °C. Pueden sobrevivir 30 min a 60 °C y desarrollan en presencia de 40% de sales biliares. La especie más frecuentemente aislada en la clínica es *E. faecalis* en 80-90% de los aislamientos, seguido por *E. faecium*, el cual está aumentando su incidencia en hospitales, especialmente cepas multirresistentes. Se encuentran en el medio ambiente y su hábitat más importante es el tracto gastrointestinal del hombre y otros animales.

Patogenia

Aunque no se ha descrito un factor de virulencia clásico, la resistencia de los enterococos a múltiples agentes antimicrobianos le permite sobrevivir y proliferar en pacientes que reciben tratamiento antimicrobiano. Esto da cuenta de la habilidad de los enterococos para sobrein-

fectar pacientes que están recibiendo antimicrobianos de amplio espectro. Los enterococos pueden adherirse a las válvulas cardíacas y a las células epiteliales renales, propiedades que sin duda contribuyen a su habilidad para causar endocarditis e infecciones del tracto urinario. Por formar parte de la flora intestinal los enterococos son capaces de producir infecciones en pacientes ambulatorios u hospitalizados, y se pensaba anteriormente que la mayoría de las infecciones causadas por estos agentes eran endógenas. Sin embargo, la mayoría de las infecciones ocurren en pacientes hospitalizados, o bajo tratamiento con diálisis peritoneal o hemodiálisis, en los cuales el agente es exógeno, encontrándose las cepas en el medio ambiente y en manos de personal. En algunos países ocupa el segundo o tercer lugar en frecuencia como causa de infección hospitalaria.

Los enterococos han sido aislados de infecciones del tracto urinario, bacteriemia y endocarditis, infecciones pélvicas, abdominales y de heridas. El atributo más sorprendente de los enterococos es su resistencia relativa y absoluta a los antimicrobianos de uso más común en las infecciones por Gram positivos. Los enterococos poseen una variedad de mecanismos adquiridos de resistencia, la mayoría de los cuales están mediados por genes codificados en plásmidos o transposones. Es muy importante la resistencia de alto nivel adquirida a los aminoglucósidos que da como resultado resistencia a la combinación sinérgica de aminoglucósidos con agentes betalactámicos, asociación terapéutica muy usada, y para la cual debe estudiarse la sensibilidad frente a una infección grave por enterococos.

A fines de la década de 1980 fue descrita en Europa la resistencia a la vancomicina (único antimicrobiano útil frente a las cepas resistentes a los demás agentes) causando actualmente impacto en otras partes del mundo. Es también en esta década que se encuentra la primera cepa productora de betalactamasas. El tratamiento de las infecciones enterocócicas es complicado, tanto por los patrones especiales de sensibilidad o resistencia que ellos exhiben, como por la necesidad de pruebas de estudio de la sensibilidad especiales para demostrar su verdadera susceptibilidad en el laboratorio.

STREPTOCOCCUS DEL GRUPO D

S. bovis es la especie más frecuentemente aislada en patología humana dentro del grupo. Son clasificados dentro del grupo D en base a su antígeno de pared (Lancefield). Las manifestaciones clínicas más importantes causadas por *S. bovis* son bacteriemia y endocarditis. La puerta de entrada es generalmente el tracto gastrointestinal, aunque la vía biliar o el tracto urinario también han sido implicados como probables fuentes.

Hay una llamativa asociación entre bacteriemia producida por *S. bovis* y neoplasia de colon subyacente, por lo que todo paciente con bacteriemia debida a *S. bovis* debe ser sometido a un estudio exhaustivo para descartar la posibilidad de esa patología subyacente. Está en discusión si *S. bovis* juega algún rol en dicho neoplasma o si es solamente un marcador. La bacteriemia por *S. bovis* se acompaña en un 25-50% de los casos de endocarditis, la cual tiene un curso subagudo y es indistinguible clínicamente de la producida por los estreptococos del grupo viridans, con raras complicaciones sépticas periféricas y excelente respuesta a los antimicrobianos.

S. bovis es muy susceptible a la penicilina. Si bien la asociación penicilina-aminoglucósido se ha mostrado sinérgica contra *S. bovis*, el curso de tratamiento durante cuatro semanas sólo con penicilina se ha mostrado igualmente efectivo. La vancomicina es una alternativa razonable en los pacientes alérgicos a la penicilina.

Streptococcus del grupo viridans o grupo alfa hemolítico

Los *Streptococcus* del grupo viridans constituyen un grupo heterogéneo compuesto por diferentes microorganismos con diferentes nichos ecológicos y patogenicidad. Aunque son organismos que forman parte de la flora normal del tracto respiratorio y digestivo, pueden, bajo determinadas circunstancias, invadir sitios estériles pudiendo provocar enfermedades graves.

Comparten las características generales del género y se caracterizan por producir un halo de alfa-hemólisis alrededor de sus colonias. Tienen requerimientos nutricionales variables y desde el punto de vista de sus requerimientos atmosféricos la mayoría son anaerobios facultativos, existiendo algunas cepas capnófilas y otras microaerófilas.

Aunque algunos aislamientos pueden reaccionar con los antisueros de Lancefield, son no agrupables. Se distinguen varias especies en este grupo, requiriendo su identificación de una variedad de pruebas bioquímicas.

Dentro de sus factores de virulencia se destacan:

- la presencia de ácido lipoteicoico que favorece la adherencia del microorganismo (importante en la adherencia a las válvulas cardíacas cuando ocasiona endocarditis);
- la producción de abundantes polisacáridos extracelulares (limo) que interviene en los mecanismos patogénicos de producción de caries y les brinda adherencia entre ellos, mecanismo importante en endocarditis.

Los estreptococos de este grupo se aíslan de diferentes procesos patológicos: caries dental, infecciones quirúrgicas, bacteriemias, endocarditis (de la cual es responsable del 50-75% de los casos sobre válvulas nativas), abscesos profundos, etc.

La mayoría de *Streptococcus* del grupo viridans son susceptibles a la penicilina G; pero se están reportando recientemente cepas moderada y altamente resistentes en algunas áreas del mundo. También se han descrito algunas cepas que presentan el fenómeno de tolerancia, en el cual los microorganismos pueden ser inhibidos por concentraciones bajas del antimicrobiano, pero se requiere un nivel 32 veces mayor para lograr la actividad bactericida.

Streptococcus pneumoniae

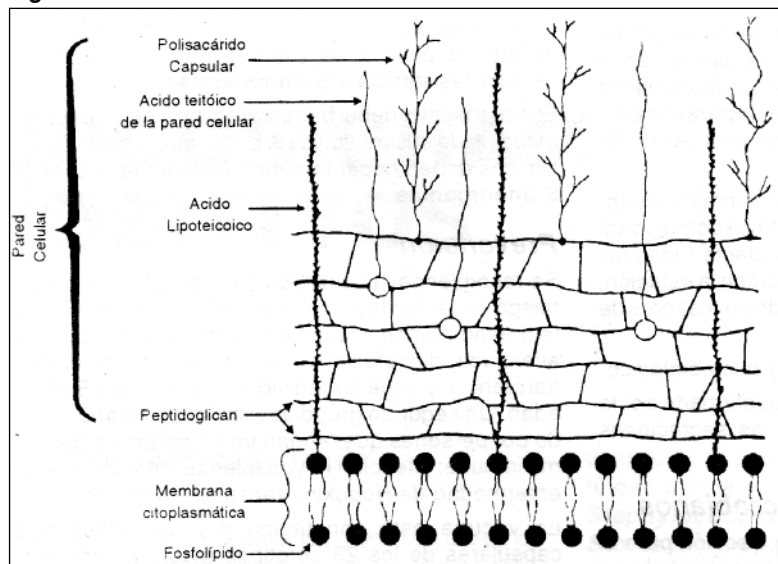
Streptococcus pneumoniae es un importante patógeno humano, agente etiológico reconocido de neumonía, meningitis, sinusitis y otitis media; es menos frecuentemente el origen de endocarditis, artritis, y peritonitis.

CARACTERES MICROBIOLÓGICOS

Es un coco Gram positivo que se agrupa formando cadenas en medio líquido. Es catalasa negativo, exigente desde el punto de vista nutricional y requiere para su óptimo desarrollo de una atmósfera enriquecida con 5-10% de CO₂. Posee una alfa-hemolisina que degrada la hemoglobina dando un color verde alrededor de la colonia cuando desarrolla en agar sangre.

El peptidoglicano y los ácidos teicoicos son los constituyentes principales de la pared celular. En la figura 2 se observa una representación esquemática de la cápsula, pared celular y membrana celular. La integridad de la pared depende de la presencia de numerosas cadenas peptídicas laterales que están entrelazadas por enzimas (transpeptidasas y carboxipeptidasas), siendo el sitio activo de estas enzimas el punto de unión de los antibióticos betalactámicos. Un constituyente único de los neumococos es el polisacárido C, un ácido teicoico compuesto por fosfato de colina covalentemente unido al peptidoglicano en la capa externa de la pared celular.

Figura 2.



Por fuera de la pared se encuentra una cápsula de naturaleza polisacárida presente en prácticamente todos los aislamientos clínicos. Se reconocen aproximadamente 80 serotipos de *S. pneumoniae* en base a las diferencias antigénicas en los polisacáridos capsulares.

MECANISMOS PATÓGENICOS

La adherencia bacteriana es el primer paso en la producción de infección. Recientemente se ha descubierto una adhesina en el neumococo que le permite unirse a receptores específicos de las células epiteliales. La naturaleza química de estos adhesinas aún no ha sido dilucidada. Una vez que la colonización ha tenido lugar, la infección resultará si los microorganismos son llevados a sitios donde los mecanismos defensivos (específicos e inespecíficos) del huésped no los eliminen.

S. pneumoniae tiene la capacidad de producir enfermedad por su habilidad para escapar a la fagocitosis y la destrucción por las células fagocíticas del huésped. A diferencia de *SgA* el *S. pneumoniae* produce pocas toxinas, de modo que produce enfermedad debido a su capacidad de replicarse en los tejidos del huésped y generar una respuesta inflamatoria intensa.

- a) Evasión de la fagocitosis: los neumococos son pobremente ingeridos por las células fagocíticas en ausencia de anticuerpos capsulares y complemento. Se ha observado experimentalmente, por transposición mutagénica, que la interrupción en la producción de cápsula torna una cepa virulenta en avirulenta. Los mecanismos por los cuales la cápsula inhibe la fagocitosis aún no están totalmente aclarados, existiendo varias posibilidades:
 - ausencia de receptores en la célula fagocítica que reconozcan los polisacáridos capsulares;
 - la presencia de fuerzas electroquímicas que repelen las células fagocíticas;
 - enmascaramiento por anticuerpos no específicos y complemento que se depositan en la superficie bacteriana y la tornan inaccesible a la fagocitosis.
- b) Activación del complemento: la pared celular del neumococo, parece activar la vía alterna del complemento. La inyección de peptidoglicano o ácido teicoico separadamente en el espacio subaracnoideo causa una reacción inflamatoria con características de meningitis

bacteriana. Esta activación está asociada con la liberación de C5a que atrae gran cantidad de polimorfonucleares al medio.

- c) Existen otros factores que contribuyen de forma secundaria en la producción de enfermedad, entre ellos se encuentran:
- neumolisina, que es una toxina que se inserta en la bicapa lipídica de las membranas celulares mediante su interacción con el colesterol, y causa una gama de efectos citolíticos y citotóxicos, por ejemplo, inhibiendo la función bactericida de los leucocitos polimorfonucleares y el barrido ciliar. Quizás más importante aún es que esta sustancia produce una intensa inflamación al activar la vía clásica del complemento.
 - otros: proteínas de superficie, autolisina (produce la desintegración de la pared bacteriana liberando sustancias bacterianas en el foco), alfa-hemolisina y, finalmente, neuraminidasa, que podría contribuir a la adherencia bacteriana por clivado del ácido siálico en las superficies mucosas.

MECANISMOS DEFENSIVOS DEL HUÉSPED

Existen amplias evidencias que la respuesta de anticuerpos anticapsulares otorga una protección efectiva contra la infección neumocócica, apareciendo anticuerpos anticapsulares específicos a los 5-8 días de comenzada la infección, que es el tiempo en que la fiebre desaparece cuando no media tratamiento antimicrobiano.

FACTORES QUE PREDISPONEN A INFECCIÓN NEUMOCÓCCICA

S. pneumoniae es el principal ejemplo de bacteria patógena extracelular. En estos microorganismos las alteraciones en los principales elementos defensivos (factores humorales como Ac, complemento y células antifagocíticas), llevarán a una predisposición del huésped a infección repetida.

PRESENTACIÓN CLÍNICA

S. pneumoniae produce una gran variedad de cuadros clínicos, destacándose entre ellos por su gravedad y frecuencia, la meningitis y la neumonía.

Meningitis

S. pneumoniae junto con *Neisseria meningitidis* constituyen los agentes más frecuentes de meningitis en el adulto. Ésta se produce como resultado de una bacteriemia o por extensión de focos cercanos (senos paranasales, oído medio). La patogénesis de la meningitis se reseña en otro capítulo.

Neumonía

S. pneumoniae es el agente más frecuente de neumonía bacteriana de origen en la comunidad. Es una patología muy frecuente que afecta todas las edades, su incidencia está relacionada con la estación, y puede ser causa de muerte sobre todo en mayores de 65 años. El diagnóstico es clínico, radiológico y microbiológico. En cuanto al último, el diagnóstico es confirmado por la identificación de *S. pneumoniae* en las secreciones bronquiales o el hemocultivo.

SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

La penicilina ha sido el antibiótico de elección para el tratamiento de infecciones neumocócicas hasta hace pocos años, que se ha tornado gradualmente más resistente a la misma. Esta resistencia refleja la selección de mutantes espontáneas, para las cuales se requiere una

concentración mayor para saturar las proteínas fijadoras de penicilina (PBP). Más recientemente aún, han aparecido cepas altamente resistentes a la penicilina, situación más grave todavía. La resistencia a la penicilina constituye solamente una parte del problema, ya que las cepas que la poseen tienen también un aumento en la resistencia a otros antibióticos betalactámicos. Vancomicina puede llegar a ser la última alternativa en la actualidad, pero se debe tener en cuenta la aparición de enterococos resistentes a la misma, y la posibilidad de transmisión de esta resistencia a *S. pneumoniae*.

En la actualidad el tratamiento debe basarse en los estudios de susceptibilidad, por lo que los laboratorios clínicos deben hacer la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) para *S. pneumoniae*.

PREVENCIÓN

Se recomienda la vacunación de aquellos grupos con riesgo incrementado de infección neumocócica: enfermedad pulmonar crónica, enfermedad cardiovascular avanzada, diabetes mellitus, cirrosis, insuficiencia renal crónica, y aquellos individuos de más de 65 años de edad. Un segundo grupo de individuos estaría integrado por personas que tengan un compromiso del sistema inmune: infección por VIH, asplenia, linfoma, mieloma, enfermedad de Hodgkin, transplantados, etc. La vacuna está constituida por los polisacáridos capsulares de los 23 serotipos más frecuentemente aislados de infecciones. Un estudio reciente de efectividad de la vacuna presentó datos epidemiológicos que demostraron que el efecto protector de la misma persiste por 5 años en personas jóvenes sanas, decreciendo más rápidamente a medida que aumenta la edad.

La inmunización pasiva con inmunoglobulina humana también protege contra la infección neumocócica, y se ha usado en niños portadores de infección por VIH y en adultos con linfoma, en los cuales no se espera tener una respuesta de anticuerpos frente a la vacunación.

Género *Streptococcus*. Procedimientos de laboratorio

Como ya mencionamos para el género *Staphylococcus* la identificación comienza con el estudio de la morfología macroscópica y microscópica a partir de un cultivo puro. Sólo haremos mención a aquellas especies más frecuentes en la práctica clínica.

En cuanto a los requerimientos nutricionales el género *Streptococcus* es exigente y por lo tanto debe ser cultivado en medios ricos que le aporten los nutrientes necesarios, por ejemplo agar sangre ovina al 5%.

Dentro de las pruebas bioquímicas para la identificación, la primera, luego de determinar que se trata de cocos Gram positivos, es la prueba de la catalasa. Ver capítulo 16, Género *Staphylococcus*.

Luego de determinar que se trata de cocos Gram positivos, catalasa negativos, debemos observar el efecto que producen las colonias de la cepa en estudio sobre placas de agar sangre ovina al 5% (tipo de hemólisis). Así podemos clasificar este grupo de gérmenes en:

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

ESTREPTOCOCOS BETA HEMOLITICOS

Los grupos más importantes son aquellos que se mencionan en la tabla 2, junto a las pruebas bioquímicas que se utilizan para su identificación presuntiva.

Tabla 2.

	Sensibilidad a la bacitracina	PYR	Prueba de CAMP	Bilis esculina
Streptococcus grupo A <i>Streptococcus pyogenes</i>	+	+	-	-
Streptococcus grupo B <i>Streptococcus agalactiae</i>	-	-	+	-

Sensibilidad a la bacitracina

Objetivo: separar el *Streptococcus pyogenes* de los demás estreptococos beta hemolíticos.

Fundamento: el 99% de las cepas de *Streptococcus pyogenes* son sensible a bajas concentraciones de bacitracina (discos con 0,04 U). Un 5% de las cepas de *Streptococcus agalactiae* son sensibles a la bacitracina.

Procedimiento: se realiza sembrando 3-4 colonias, tomadas con asa bacteriológica de un cultivo puro, que se estrían sobre una placa de agar sangre en varias direcciones intentando obtener un cultivo confluyente. Luego se coloca el disco de bacitracina y se incuba 18-24 horas a 35-37°C.

Interpretación de los resultados: la aparición de cualquier halo de inhibición del crecimiento alrededor del disco se considera una prueba positiva (no importa el diámetro del halo).

Hidrolisis del PYR

Objetivo: separar *Streptococcus pyogenes* y *Enterococcus* de los demás estreptococos. *S. pyogenes* y *Enterococcus* poseen la capacidad de hidrolizar el sustrato PYR (pirridonil β-naftilamida) debido a que poseen la enzima l-piroglutamil aminopeptidasa. Existen varias configuraciones comerciales de este test por eso no detallaremos ninguna en particular. En general siempre se revelan por un cambio de color. Este test es más específico y menos laborioso que realizar el test de sensibilidad a la bacitracina, la bilis esculina y caldo salado (se verán más adelante).

Prueba de CAMP

Objetivo: separar *Streptococcus agalactiae* de los demás estreptococos β-hemolíticos.

Fundamento: los estreptococos del grupo B producen una proteína extracelular difusible llamada "factor CAMP" (iniciales de los autores que lo describieron) que actúa sinérgicamente con la β-lisina de *S. aureus*, potenciando la lisis de los eritrocitos.

Procedimiento: se realiza estriando un cultivo del estreptococo β-hemolítico en estudio en forma perpendicular a una estría de un estafilococo productor de β-lisina, en placas de agar sangre. Se incuban 18-24 horas a 37°C.

Interpretación de los resultados: la prueba positiva se evidencia por la presencia de una zona de potenciación de la hemólisis en forma de punta de flecha en el lugar donde se contactan las dos estrías.

ESTREPTOCOCOS ALFA Y GAMMA HEMOLITICOS

Dentro de este grupo se incluyen *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* del grupo *viridans* y *Enterococcus* (algunas cepas pueden presentar beta-hemólisis). Describiremos los ensayos bioquímicos utilizados para su identificación.

Tabla 3. Algunas características de las bacterias del género *Streptococcus* frecuentes en patología humana

Clasificación bioquímica	Clasificación serológica	Tipo de hemólisis (en placa de agar sangre ovina al 5%)
<i>S. pyogenes</i>	A	Beta
<i>S. anginosus</i>	A, C, F, G o no agrupables	Beta, Alfa o Gamma
<i>S. agalactiae</i>	B	Beta, ocasionalmente Gamma
<i>S. disgalactiae</i>	C, G	Beta
<i>S. bovis</i>	D	Alfa, Gamma, ocasionalmente Beta

Bilis esculina

Objetivo: separar los estreptococos del grupo D y *Enterococcus* de los demás grupos de estreptococos.

Fundamento: se basa en la capacidad de los estreptococos del grupo D y *Enterococcus* para crecer en un medio de cultivo que contiene 40% de bilis y de hidrolizar la esculina a esculetina; ésta se combina con el citrato ferroso que posee el medio, dando un complejo de color negro. La concentración de bilis es fundamental, ya que existen estreptococos del grupo viridans que son capaces de crecer a concentraciones menores de bilis.

Procedimiento: se realiza sembrando en superficie tubos de agar bilis esculina inclinado.

Interpretación de resultados: una reacción positiva se evidencia como ennegrecimiento del medio.

Prueba de tolerancia a la sal (caldo salado)

Objetivo: separar los enterococos, capaces de crecer en caldo salado, de los demás estreptococos del grupo D.

Fundamento: se basa en la capacidad de los enterococos de crecer en una concentración de 6,5% de NaCl. Se trata de un medio de cultivo líquido que contiene además de NaCl, glucosa y un indicador de pH: púrpura de bromocresol.

Procedimiento: se inocula el caldo salado con la cepa a estudiar y se incuba 18-24 horas a 35°C.

Interpretación de los resultados: se considera la prueba positiva cuando aparece turbidez con o sin acidificación del medio, que se observa como un viraje de color del púrpura al amarillo. La no aparición de turbidez indica una prueba negativa.

PYR

La prueba de PYR se utiliza para la identificación del género *Enterococcus*, como ya fue mencionado.

Para la identificación de especies dentro del género *Enterococcus* se realizan una serie de pruebas bioquímicas basadas en la utilización de distintos azúcares y aminoácidos, entre otras.

Sensibilidad a la optoquina

Objetivo: diferenciar *S. pneumoniae* de otros estreptococos β -hemolíticos.

Fundamento: se basa en la sensibilidad de *S. pneumoniae* a una concentración menor o igual a 5 µg/ml de hidroxocuprina (optoquina).

Procedimiento: estriar un cuadrante de una placa de agar sangre en varias direcciones con una suspensión Mc Farland 0,5. Colocar luego un disco de optoquina en el centro del área estriada. Incubar 18-24 horas a 37°C en 5-10% de CO₂.

Interpretación de resultados: halos de inhibición iguales o mayores a 14 mm; o iguales o mayores a 16 mm con discos de optoquina de 6 y 10 mm de diámetro, respectivamente, indican sensibilidad.

Identificación serológica

Muchos *Streptococcus* aislados de infecciones humanas poseen antígenos específicos de naturaleza polisacárida (polisacárido C o ácidos teicoicos) que se encuentran en la pared celular. La extracción del polisacárido C por diferentes técnicas y su posterior enfrentamiento con antisueros específicos definen una serie de grupos que se denominan con letras mayúsculas a partir de la A. La utilidad de la extracción antigénica dependerá del tipo de hemólisis. En los estreptococos β-hemolíticos se ha confirmado como el mejor método para su clasificación. En los no β-hemolíticos, la extracción antigénica sólo es útil para la identificación de los grupos D y B.

Existen diferentes métodos para la extracción enzimática que no detallaremos. Actualmente se utilizan métodos de extracción rápida por medio de enzimas de extracción. Luego se procede a la identificación del polisacárido por medio de técnicas de aglutinación con partículas de látex que tienen absorbido el antisuero específico. También existen en el mercado kits comerciales que utilizan técnicas de coaglutinación.

Bibliografía

- Manual of Clinical Microbiology. 7th edition. Edited by Murray P, Baron E.J, Pfaller M, Tenover F, Tenover R. 1999. ASM Press, Washington.
- Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens. 3rd ed. Edited by Brogden KA et al. 2000. ASM Press, Washington.
- Mims, Playfair, Roitt, Wakelin and Williams, Microbiología Médica, 2^a edición. Mosby, Harcourt Brace, España, 1999.