



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLAN"

" AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE
STREPTOCOCCUS GRUPO-D DE LANCEFIELD
DE DIVERSOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS "

FALLA DE ORIGEN

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
ROBERTO RIVERA SANCHEZ

Director de Tesis: Dr. Jorge Manuel Hill Juárez

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Méx.

1989.





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

Pag:

INTRODUCCION.....	1
GENERALIDADES.....	5
OBJETIVOS.....	22
MATERIAL Y METODOS.....	25
RESULTADOS.....	44
CONCLUSIONES.....	55
DISCUSION	57
RESUMEN.....	67
APENDICE	69
BIBLIOGRAFIA.....	78

I N T R O D U C C I O N

Los Streptococcus grupo - D de Lancefield constituyen dos grupos de microorganismos de importancia médica: Los Streptococcus grupo D enterococos que incluyen cuatro especies biotípicamente distintas: (Streptococcus faecalis, Streptococcus faecium, Streptococcus durans y Streptococcus avium) y los Streptococcus grupo - D No enterococos que incluyen a tres especies con características biotípicas diferentes (Streptococcus bovis, Streptococcus bovis variant y Streptococcus equinus). (2, 12, 29).

Amos grupos de microorganismos son habitantes normales del tracto gastrointestinal humano; así mismo los enterococos se presentan frecuentemente como flora normal, en la uretra anterior y en la vagina.

Los Streptococcus grupo - D pueden diseminarse de esos sitios para causar bacteremia, colecistitis, infecciones en heridas, infecciones del tracto urinario y endocarditis. Así mismo pueden ser agentes causales de abscesos pélvicos y peritonitis, también se pueden aislar de la parte intraabdominal cuando existen procesos infecciosos y como copatógenos polimicrobiales en tejidos blandos.

Cuando se produce septicemia por Streptococcus grupo - D en el período neonatal se puede presentar meningitis, particularmente por Streptococcus faecium (8, 12, 27, 29). Así mismo cuando ocurre sepsis por Streptococcus bovis, este microorganismo puede ser un agente causante de endocarditis y ser un indicador de enfermedad gastrointestinal, ya que se le asocia con carcinoma de colon y otros desórdenes gastrointestinales. (22, 23).

Actualmente los enterococos son catalogados como el tercer grupo de microorganismos junto con Streptococcus grupo viridans y -- Staphylococcus aureus como los causantes más comunes de endocarditis, principalmente Streptococcus faecalis. Debido a que los -- Streptococcus grupo - D enterococos son resistentes a varios antibióticos, se requiere de una combinación de agentes antimicrobianos para tratamiento de infecciones graves como endocarditis causada por estas bacterias, usualmente se utiliza penicilina, vancomicina o ampicilina con un aminogluósido (7, 9, 25).

En el pasado para diferenciar a estos dos grupos de Streptococcus grupo - D, se asumió que las especies no enterococales eran susceptibles a penicilina, mientras que los enterococos requieren de penicilina y un aminogluósido para el tratamiento de infecciones severas por la resistencia que presentan a la penicilina (12, 21).

De los Streptococcus grupo - D, las especies durans, avium, equinus y bovis variant son raramente aislados de muestras clínicas, sin embargo en ciertos casos pueden ser causantes de diversos procesos infecciosos (23, 26).

Por otra parte debido a que los Streptococcus grupo - D son altamente resistentes a varios antibióticos por ejemplo penicilina, aminoglucoósidos y cefalosporinas (19), y además de que la mayoría de los laboratorios clínicos presuntivamente identifican a los - - Streptococcus grupo - D y simplemente indican que solo son enterococos o no enterococos basados solamente en las pruebas fisiológicas, tales como hidrólisis de Esculina en medio Bilis - Esculina y desarrollo en presencia de cloruro de sodio a una concentración de 6.5% que son pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de grupo y para diferenciar los enterococos de los No enterococos respectivamente, la identificación de especies por pruebas bioquímicas pueden ser apropiadas y ayudar a la investigación epidemiológica e indicar una dirección o tendencia para establecer la existencia de procesos infecciosos debido a estos microorganismos; así mismo la identificación de especies y pruebas de susceptibilidad de los Streptococcus grupo - D puede ayudar al médico en la elección de una terapia antimicrobiana apropiada (26,27,33), de ahí que el presente trabajo se avoque a identificar las especies pertenecientes a los Streptococcus grupo - D y determinar la

susceptibilidad a varios agentes antimicrobianos (amikacina, ampicilina, carbenicilina, cefamandol, cefoperazona, cefotaxima, cefoxitina, cefalotina, cloranfenicol, clindamicina, eritromicina, gentamicina, meticilina, mezlocilina, moxalactam, nitrofurantoina, penicilina, piperacilina, trimetoprim/sulfametoxazol, tetraciclina, tobramicina y vancomicina).

G E N E R A L I D A D E S

En 1874 Billroth descubrió unos microorganismos esféricos que crecían en forma de cadena a partir de exudados purulentos de lesiones erisipelatosas y heridas infectadas. Más tarde se demostró la existencia de organismos similares denominados Streptococos (del griego - Streptos, sinuoso, torsionado) en sangre de una mujer con fiebre puerperal (5). Poco después estos microorganismos fueron aislados de enfermos con escarlatina. Alexander Ogston definió el papel de estos microorganismos en infecciones postquirúrgicas de heridas. Coburn estableció la relación entre estreptococos y fiebre reumática. (13).

En 1903 H. Schottmüller propuso que las diferentes variedades fueran clasificadas según su capacidad para hemolizar eritrocitos, y en 1919 J.H. Brown introdujo los términos alfa, beta y gamma para describir los tipos de reacción hemolítica observadas en placas de agar sangre. (5).

A principios de la década de 1930 Rebecca Lancefield propuso que los Streptococcus beta hemolíticos fueran diferenciados en base a diferencias serológicas establecidas en base a la composición

del carbohidrato C de la pared celular, designados en la actualidad por letras de la A hasta la O. (5, 25).

Los carbohidratos - C son generalmente polisacáridos de pared celular, conteniendo la mayoría de los grupos ramnosa y hexosamina como principales constituyentes reactivos. La especificidad antigénica depende principalmente de la naturaleza del residuo terminal de azúcar de sus cadenas laterales de ramnosa, que es un oligosacárido. Proporciona la base para el agrupamiento serológico de Lancefield. (5).

Los Streptococcus pertenecen a la familia Streptococaceae y presentan las siguientes características:

- Son células ovoides, gram positivas, no formadoras de esporas e inmóviles, que se disponen en cadenas.
- Su división celular es en un plano perpendicular al eje de la cadena que da como resultado pares o cadenas de cocos.
- Algunos estreptococos producen cápsula constituida de polisacáridos.

- El crecimiento de estos microorganismos en su mayoría es en medios sólidos, formando colonias discoidales de aproximadamente 1 - 2 mm de diámetro.
- Metabolismo fermentativo, produciendo ácido láctico, su energía proviene principalmente de la utilización de azúcares como la glucosa, tanto si se crecen en condiciones aerobias o anaerobias. (14).
- Son catalasa negativa, debido a que carecen de la enzima catalasa (12), oxidasa negativa, ya que presentan ausencia del sistema citocromo y nitratos negativo (14).
- La mayoría de los estreptococos son anaerobios facultativos, en tanto otras cepas son anaerobios estrictos (14), es decir, son facultativos con respecto al oxígeno, por lo que muchas especies crecen mejor anaeróbicamente que aeróbicamente y de este modo son nombrados microaerofílicos o aerobias aerotolerantes (12).
- Las variantes de una misma cepa de estreptococos pueden dar lugar a colonias con diferentes morfologías. Siendo las colonias mates las formadas por los microorganismos virulentos que elaboran abundante proteína M y las colonias lustrosas que producen poca proteína M y generalmente son avirulentas.

- Algunas cepas de los grupos B y D producen pigmentos -- (amarillo o rojo).
- La temperatura de crecimiento es de 37°C en la mayoría de los estreptococos.

La morfología, el tamaño y grado de hemólisis de las colonias varía según:

El grupo al que pertenezca la cepa, el tiempo de crecimiento, condiciones de incubación y composición del medio de cultivo (14).

Las especies que más frecuentemente causan enfermedad en el hombre es Streptococcus pyogenes que pertenece al grupo A. Sin embargo, también pueden producirse enfermedades causadas por Streptococcus de los grupos B al G, como en el caso de Streptococcus grupo -- D que son agentes causales de endocarditis bacteriana subaguda, peritonitis y otros procesos infecciosos, principalmente los enterococos . (5).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico de laboratorio para estreptococos regularmente se realiza por medio de la tinción de Gram, cultivo del microorganismo y por pruebas serológicas, particularmente este último, puesto que los Streptococcus beta hemolíticos, pneumococos y los — — Streptococcus alfa hemolíticos y no hemolíticos de los grupos B y D son correctamente identificados por procedimientos serológicos.

(12).

En la mayoría de los laboratorios clínicos sólo se identifican en forma rutinaria los grupos A, B y D, ya que dichos grupos son de importancia médica, puesto que son responsables de la mayoría de las infecciones producidas en humanos. Estos laboratorios comúnmente recurren a un mínimo de técnicas simples que demuestran diferentes características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas de todas las especies de streptococcus a fin de lograr una identificación presuntiva.

La identificación inicial esta orientada a evaluar el tamaño y aspectos de las colonias en medio de cultivo primario y el tipo de hemólisis producida en agar sangre, esto último es una característica importante para la presuntiva identificación de estreptococos.

Sin embargo a fin de evitar errores en la interpretación basados en el análisis inicial de las placas de agar sangre, se llevan a cabo pruebas adicionales simples para establecer la identificación definitiva de estos microorganismos (8, 12), estas son:

La prueba de Bacitracina y la Hidrólisis de L - Pirrolidoniil - Beta - Naftalamida (PYR), que son pruebas presuntivas para la identificación de Streptococcus grupo - A ya que dan una reacción positiva. Se considera también que la prueba de Camp es característica de los Streptococcus grupo - B, puesto que este grupo de microorganismos en su mayoría dan la prueba de Camp positivo. Y para la identificación presuntiva de Streptococcus grupo - D se utiliza la prueba bilis - esculina a la cual estas bacterias dan reacción positiva, así mismo las pruebas de tolerancia a una concentración de 6.5% de cloruro de sodio y la Hidrólisis de L - Pirrolidoniil - Beta - Naftalamida se usan para diferenciar a los Streptococcus grupo -D no enterococos de los enterococos, ya que estos últimos dan reacción positiva a ambas pruebas.

La siguiente tabla indica la identificación presuntiva de Streptococcus de importancia médica basada en las reacciones de Bacitracina, Factor Camp, Hidrólisis de L - Pirrolidoniil - Beta - Naftalamida (PYR), bilis - Esculina y tolerancia al cloruro de sodio (NaCl) a una concentración de 6.5% (30, 31).

TABLA NUMERO " 1 "

IDENTIFICACION PRESUNTIVA DE LOS GRUPOS DE STREPTOCOCCUS DE IMPORTANCIA MEDICA

IDENTIFICACION PRESUNTIVA -- DE STREPTOCOCCUS:	PRUEBA PRESUNTIVA				
	BACITRACINA	FACTOR CAMP	PYR	BILIS ESGULINA	6.5% NaCl.
GRUPO -- A	+	—	+	—	—
GRUPO -- B	—	+	—	—	—
GRUPO -- D ENTEROCOCCO	—	—	+	+	+
GRUPO -- D NO ENTEROCOCCO	—	—	—	+	—

- 11 -

IDENTIFICACION Y RECONOCIMIENTO DE
STREPTOCOCCUS GRUPO - D

Estos microorganismos son cocos gram (+), se agrupan en cadenas y son inmóviles. Las colonias de Streptococcus grupo - D son grandes como las colonias del grupo - A en la superficie del Agar Sangre (0.5 - 1.0 mm), son menos opacas y algunas son lustrosas blancas, semejantes a las colonias de Staphylococcus en agar sangre, es decir son colonias lisas redondas, elevadas y brillantes.

Este grupo de microorganismos puede exhibir reacción hemolítica Alfa, Beta o no producir hemólisis. Las zonas producidas por la Beta hemólisis son tan grandes como las zonas producidas por otros Streptococos (12).

Los Streptococcus grupo - D producen carbohidrato C grupo - D específico, el cuál es un hidrato de carbono compuesto de D - glucosa y N - acetilglucosamina que también contiene Ramnosa, crecen a temperaturas que oscilan entre 10 - 45°C, así como en leche con 0.1% de azul de metileno, en gelósa con 40% de bilis. Los enterococos, los cuales pertenecen a este grupo de microorganismos crecen en presencia de cloruro de sodio (NaCl) a una concentración de 6.5% (14).

Los Streptococcus grupo - D pueden diferenciarse virtualmente de todos los Streptococcus por la habilidad que tienen de hidrolizar esculina en presencia de bilis en un medio de Bilis - Esculina, por lo que se usa esta prueba para identificar en forma presuntiva a estas bacterias. Así mismo la prueba de tolerancia al 6.5% de NaCl permite diferenciar a los enterococos de los no enterococos del grupo - D, puesto que solo los enterococos desarrollan en presencia de esa concentración de cloruro de sodio (12, 13, 31).

Los Streptococcus del grupo - D de Lancefield pueden ser correctamente categorizados por serología de grupo con sueros específicos mediante la prueba de coagulación con el equipo comercial -- Phadebact (17, 21). También la identificación de este grupo de microorganismos puede llevarse a cabo con la prueba de aglutinación en Latex con el equipo comercial Sero - Stat, prueba serológica que incorpora el antisuero específico de grupo, y se realiza en forma rápida cuando se correlaciona con la morfología y la reacción hemolítica que se produce en agar sangre, agar sangre o lumbia con Colistina - Acido Nalidixico (32).

Así mismo estas bacterias pueden ser identificadas con el sistema API - 20S que incorpora varias pruebas convencionales y varios sustratos cromógenos que permiten evaluar a este grupo en corto tiem

po y en combinación con las pruebas rápidas de susceptibilidad antimicrobiana permiten el diagnóstico en un sólo día, lo cual es de importancia a nivel clínico (21).

Actualmente existen métodos para describir el tipo de Streptococcus grupo - D enterococo, en particular Streptococcus faecalis. Tales procedimientos son la biotipificación, serotipificación y el tipo de fago. Los fagos pueden ser utilizados para la identificación de grupo y especie.

Los métodos mencionados tienen el propósito de determinar las características de los enterococos y alguna variación en el lisotipo, serotipo y biotipo tan semejante. (8).

Los enterococos pueden ser identificados en un tiempo de 4 horas mediante las pruebas de tolerancia al cloruro de sodio y bilis - - Esculina modificadas y que se interpretan con el sistema autobac.

También los enterococos pueden ser identificados rápidamente con la prueba de hidrólisis del sustrato L - - Pirrolidonil - Beta - - Naftalamida (PYR) lo cual hace factible separarlos de los - - Streptococcus grupo - D No enterococos. Esta técnica es altamente específica para Streptococcus faecalis y Streptococcus faecium, pero no para las especies avium y durans debido a que presentan una reacción dudosa. (17).

Usualmente la identificación y diferenciación de especies de Streptococcus grupo - D se lleva a cabo por medio de pruebas bioquímicas convencionales desarrolladas y descritas por R.R. - Packham que incluyen:

Hidrólisis de Esculina en Medio Bilis - Esculina, Tolerancia a una concentración de 6.5% de NaCl en medio líquido, agar con almidón, Hidrólisis de Piruvato, Arginina e Hipurato y Acidificación de Sacarosa, Lactosa, Manitol, Sorbitol, Sorbosa, Arabinosa, Inulina y Caldo con Rafinosa y producción de Glucanos Extracelulares.

(12, 21).

SIGNIFICANCIA CLINICA

Los Streptococcus grupo - D se presentan como habitantes normales del tracto gastrointestinal humano, los enterococos así mismo se presentan frecuentemente en uretra anterior y vagina.

Este grupo de microorganismos al expandirse de su habitat normal puede causar bacteremia, colecistitis e infecciones en heridas, son considerados como agentes causales de peritonitis y abscesos pelvicos. Aproximadamente el 10% de las infecciones del tracto urinario y el 20% de los casos de endocarditis son causadas por Streptococcus grupo - D, en particular los enterococos. Así mismo se reporta que entre el 10 y 15% de los casos de endocarditis infectiva es causada por estos microorganismos (8, 25, 29). Actualmente los enterococos son catalogados como el tercer grupo junto con Streptococcus grupo viridans y Staphylococcus aureus como los microorganismos más comunes causantes de endocarditis bacteriana, lo que representa un problema terapéutico, puesto que los enterococos comunmente requieren de una combinación de antibióticos para el tratamiento de este proceso infeccioso, regularmente penicilina, vancomicina o ampicilina con un aminoglucósido. (7, 9, 25).

Streptococcus faecalis, especie más común de enterococos causante de infección en humanos presenta una alta incidencia (15%) de producción de endocarditis y algunos casos de endocarditis infectiva.

Típicamente este microorganismo es susceptible a ampicilina, pero debido a la ausencia de actividad bactericida, usualmente requiere de una combinación de antibióticos (9, 11, 28).

También los enterococos son comúnmente aislados como copatógenos polimicrobiales en tejidos blandos y de la parte intraabdominal cuando existen procesos infecciosos (29). La septicemia con -- Streptococcus grupo - D o con Streptococcus entericos que ocurre en el período neonatal presenta la posibilidad de un ataque temprano de enfermedad idéntico al de Streptococcus grupo - B. Los defectos anatómicos del sistema nervioso central, endocarditis e infección del tracto urinario con Streptococcus grupo - D puede predisponer al paciente a meningitis produciendo una mortalidad del 33%, la sepsis por Streptococcus bovis es asociada clínicamente con carcinoma de colon, la recuperación de este microorganismo sirve como indicativo primario de una infección gastrointestinal. Estudios actuales demuestran una asociación entre la bacteremia por - Streptococcus bovis y endocarditis, así como trastornos gastrointestinales, como diverticulosis, adenocarcinomas metastásicos de estómago y otros trastornos gastrointestinales. (8,12,22,23,35).

Streptococcus faecium junto con Streptococcus faecalis son los enterococos más comunmente aislados, presentan un alto nivel de resistencia a los agentes antimicrobianos comparados con otros Streptococcus, Streptococcus faecium puede ser causante de infecciones en el nosocomio particularmente en la unidad de cuidados intensivos, puesto que existe un reporte de sepsis neonatal debida a este microorganismo, causante de bacteremia y/o meningitis. Otro estudio reporta un caso de infección en neonatos por Streptococcus grupo - D, más las especies no fueron indicadas.

(26,27).

SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Los Streptococcus grupo - D No enterococos son susceptibles a penicilina, mientras que los enterococos generalmente requieren una combinación de antibióticos, regularmente penicilina y un amino - glucósido. (21).

Las combinaciones de penicilina con tobramicina, netilmicina o - sisomicina son efectivas " in vitro " frente a Streptococcus - faecalis sin embargo no lo es Streptococcus faecium.

Los Streptococcus grupo - D enterococos son uniformemente resistentes a las cefalosporinas. La mayoría de los Streptococcus bovis son susceptibles a penicilina, que es el medicamento de elección para el tratamiento de infecciones causadas por esta microorganismo, sin embargo esta bacteria ha mostrado tolerancia a vancomicina, cefalotina y resistencia a aminogluósidos. (12, 35).

Pruebas de susceptibilidad " in vitro " reportan que los enterococos son resistentes a altas concentraciones de gentamicina, por lo que no producen sinergismo mortal por combinación con penicilina, no obstante, la combinación penicilina - tobramicina es efectiva. (18, 25).

Otros estudios de susceptibilidad " in vitro " manifiestan que los enterococos: Streptococcus faecalis y Streptococcus faecium presentan susceptibilidad a las siguientes cefalosporinas; cefalotina, cefamandol y cefotaxima, presentando Streptococcus faecalis mayor susceptibilidad a cefotaxima y Streptococcus faecium a cefalotina, sin embargo ambos establecieron notable resistencia a moxalactam. En contraste Streptococcus bovis exhibió susceptibilidad a cefalotina, cefamandol y cefotaxima y en menor grado a moxalactam. (10).

En estudios de sensibilidad " in vitro " de Streptococcus faecalis y Streptococcus faecium que involucra la actividad antibacteriana de vancomicina, ampicilina, eritromicina y los nuevos agentes antimicrobianos CI - 934, enoxacin, ciprofloxacina, norfloxacina, -- A - 56620, A - 56619, amifloxacina e imipenem, se pone de manifiesto que estos antibióticos presentan mayor actividad frente a -- Streptococcus faecalis con respecto a Streptococcus faecium demostrando que Streptococcus faecium es un microorganismo más resistente a la actividad antimicrobiana. Así mismo, tanto el antibiótico CI - 934, una quinolona derivada del ácido nalidixico y el imipenem presentarán buena actividad contra ambos microorganismos, lo que indica que pueden ser usados para tratamiento de infecciones urinarias y sistémicas y contra infecciones por enterococos aislados de orina, pelvis, infecciones intraabdominales y

tejidos blandos respectivamente. Por lo que estos agentes antimicrobianos pueden ser usados solos o en combinación con gentamicina u otro antibiótico e incrementar la actividad bactericida.

(26)

Streptococcus faecalis y sus subespecies symogenes y liquefaciens en pruebas de susceptibilidad antibacteriana indican que son altamente susceptibles a vancomicina, ampicilina, azlocilina, mezlocilina y piperacilina, no obstante son moderadamente resistentes a cloranfenicol y altamente resistentes a eritromicina, rosaramicin, gentamicina y trimetoprim/sulfametoxazol. (29).

Se ha observado en varios estudios que el antibiótico experimental LY146032 (Daptomicin), un lipopéptido cíclico que inhibe síntesis de pared celular bacteriana es altamente bactericida contra las especies de Staphylococcus y Streptococcus incluyendo enterococos, ya que recientemente ha exhibido buena actividad contra enterococos.

Se ha puesto de manifiesto que este agente antibacteriano disminuye la cantidad de Streptococcus faecalis expuestos a la actividad de este antibiótico y en combinación con gentamicina reduce aún más la cantidad de estos microorganismos, lo que indica que tanto

esta combinación como el antibiótico L1146032 solo, puede ser útil en la terapéutica de las infecciones sistémicas, infecciones del tracto urinario e infecciones de tejidos blandos causados por enterococos, también puede ser eficaz para prevenir infecciones y modificar o mejorar las infecciones establecidas por Streptococcus faecalis y Streptococcus faecium, incluyendo cepas resistentes a aminoglucósidos y a especies productoras de penicilinas. Así mismo puede ser un agente alternativo para substituir a la penicilina o ampicilina en pacientes que son alérgicos a penicilina o que se usan en combinación con un aminoglucósido para el tratamiento de infecciones sistémicas por enterococos. (3, 15, 34).

Se tienen varios reportes de Streptococcus faecalis con un alto nivel de resistencia a penicilinas, debido a la producción de enzimas beta lactamasas por plasmidos. (1). Recientemente se han identificado dos especies de Streptococcus faecalis productoras de penicilinas, que complican la terapia de infecciones por este microorganismo y otros enterococos. (3). Estudios actuales indican que Streptococcus faecalis y Streptococcus faecium presentan sensibilidad a vancomicina, cloranfenicol y cefoperazona. (4, 27, 29).

En 1979, los plasmidos que llevan un alto nivel de resistencia a

gentamicina fueron observados en Streptococcus faecalis aislados en Francia, dos aislamientos de Streptococcus faecalis, uno en Houston y otro en Filadelfia presentaron marcada resistencia a los aminogluósidos y producción de beta lactamasas mediada por plasmidos. La notable resistencia a los aminogluósidos por Streptococcus faecium es consecuencia de la presencia de enzimas 6' - AAC (acetilasas) en la mayor parte de estos microorganismos, lo que induce que los aminogluósidos como tobramicina, netilmicina y otros sean susceptibles o modificados en la posición número seis de la estructura química de estos agentes antimicrobianos y ser incapaces de presentar su efecto. Sin embargo no es inactivada la amikacina por estas enzimas, no obstante la resistencia a amikacina es resultado de la presencia de la enzima modificadora 3 - fosfotrasferasa .

(18, 19).

Recientemente se ha identificado un transportador cromosomal resistente a tetraciclina (Tn 916) en una cepa de Streptococcus faecalis capaz de transferir la conjugación en la ausencia de plasmidos DNA.

Así mismo la resistencia que Streptococcus bovis presenta a tetraciclina y eritromicina puede ser originada por la presencia de marcadores mediados por plasmidos. (35).

O B J E T I V O S

1. Caracterizar y diferenciar Streptococcus grupo - D de Lancefield por medio de pruebas bioquímicas.
2. Determinar la frecuencia de Streptococcus grupo - D de Lancefield de diversos productos biológicos.
3. Determinar la susceptibilidad " in vitro " de los -- Streptococcus grupo - D a diferentes agentes antimicrobianos; mediante métodos cuantitativos.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL:

Tubos de ensaye de 13 x 100 mm con tapón de rosca.

Tubos de ensaye de 15 x 125 mm con tapón de rosca.

Matraz Erlenmeyer 1 lt.

Probeta graduada 1 lt.

Pipetas graduadas 1 y 2 ml

Vasos de precipitado de 250 ml.

Gradilla

Caja de petri desechables.

Jeringas desechables.

Asa de inoculación

Pipetas Pasteur

Placas comerciales Uniscept - Mic con agentes anti
microbianos para pruebas de susceptibilidad.

Inoculador manual

Estufa o Incubador

Autoclave

Refrigerador

Microscopio Estereoscópico

Microscopio Optico de luz

Filtros para membranas

Membranas Millipore

Porta objetos

Mechero Bunsen

Agujas

Pipetas de 50 microlitros y puntas estériles —

(equipo comercial).

Bulbo para pipeta

Piseta

REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO:

Medio Base para agar sangre

(Bioxon de México).

Medio Bilis - Esculina

(formulación).

Sangre de carnero desfibrinada

Medio infusión cerebro - corazón

(BHI) (MERCK)

Base de Andrade

(Formulación).

Medio para arginina

(Formulación).

Sacrososa

(MERCK).

Lactosa

(Sigma de México).

Manitol

(MERCK)

Arabinosa

(Sigma de México).

Medio de conservación Egg - Meat Medium

(DIFCO).

Agua destilada

Equipo de Gram (cristal violeta, lugol mezcla alcohol
acetona, safranina).

Solución salina fisiológica 0.85%

Fenol 5%

Standard de Mac - Farland ($BaSO_4$) No 0.5 de turbidez
standard.

Aceite mineral

Aceite de Inmersión

Peróxido de Hidrógeno.

Durante un período comprendido entre enero y marzo de 1989, se trabajaron un total de 905 muestras en el laboratorio de Bacteriología, de donde se reportaron 120 aislamientos de Streptococcus grupo - D. Los 120 aislamientos analizados, procedían de diversos productos biológicos: orina (urocultivo), exudado vaginal exudado uretral, líquido seminal (espermocultivo), líquido perianal, cultivo de secreción, herida quirúrgica, traqueostomía, exudado traqueal, cateter, sonda Foley, líquido pleural, cultivo ético y exudado faríngeo, de pacientes hospitalizados y de consulta externa del hospital regional - 20 de Noviembre - ISSSTE.

Los 120 aislamientos de Streptococcus grupo - D de las diversas muestras clínicas previamente fueron sembradas en agar - sangre, para posteriormente identificar por morfología colonial y confirmar con pruebas bioquímicas, las cuales comprendían bilis - esculina tolerancia al cloruro de sodio a una concentración de 6.5%, hidrólisis de arginina y fermentación de sorbitol.

La observación directa en placas de Agar sangre mostró que estos microorganismos seleccionados por morfología colonial, se encuentran en cultivo abundante, generalmente asociados a otros microorganismos.

Todas las muestras utilizadas en este estudio, fueron obtenidas del medio bilis - esculina (que es una prueba presuntiva para la identificación de Streptococcus grupo - D) y sembradas en placas de agar sangre para purificar a las cepas de Streptococcus, se incubaron a 37°C, 24 hrs.

IDENTIFICACION PRESUNTIVA

Después de la incubación de estos microorganismos se llevo a cabo la identificación presuntiva por medio de la observación directa de morfología colonial, presentándose colonias lisas, redondas, blanquocinas y elevadas características de este tipo de -- -- Streptococcus; respecto al grado de hemólisis, los Streptococcus grupo - D no presentaron actividad hemolítica.

La prueba de la catalasa realizada a estos microorganismos fue negativa, que es típica de los Streptococcus. La observación microscópica se llevo a cabo por medio de la tinción de Gram, observando se cocos gram positivos y agrupados en cadenas.

Posteriormente, se llevo a cabo la caracterización de grupo y diferenciación de especies por pruebas bioquímicas que incluyan las

pruebas de: bilis - esculina para confirmación de grupo, tolerancia al cloruro de sodio a una concentración de 6.5% descarboxilación de arginina y fermentación de los carbohidratos; sacarosa, lactosa manitol y arabinosa para la diferenciación de especies, basadas en el esquema de identificación desarrollado por R. R. - Facklam. (TABLA 2).

CONSERVACION DEL MICROORGANISMO

Luego de realizar la confirmación de grupo y especie, un promedio de cinco colonias fueron puestas en un tubo de ensaye conteniendo el medio de conservación Egg - Meat, el cual se incubo 37°C 24 hrs.

Posteriormente los tubos fueron refrigerados a 4°C hasta realizar las pruebas de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos, re sembrando las cepas en placas de agar sangre a partir del medio de conservación Egg - Meat.

Lo anteriormente descrito se muestra esquemáticamente en el diagrama de trabajo.

CONTROLES:

Para este estudio se trabajaron además de los 120 aislamientos, dos cepas control:

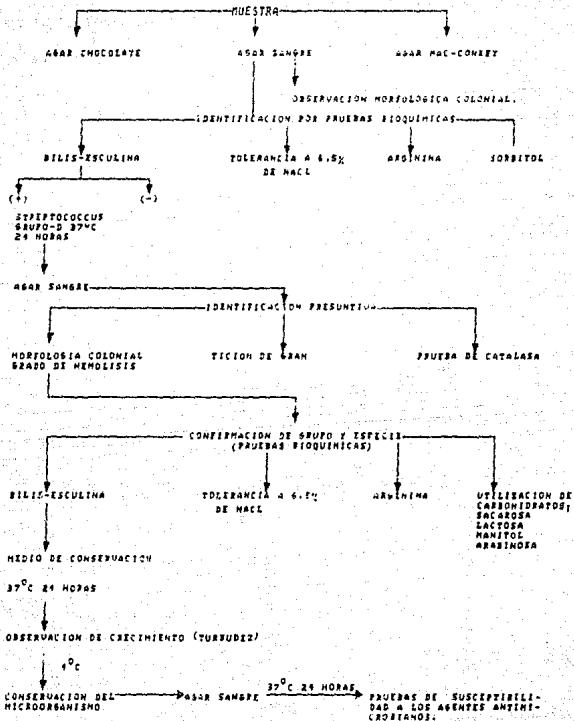
Streptococcus faecalis: ATCC 10541

Streptococcus faecium: (5/1 Guthof) aislado por Bilthoven, E.

(Escuela de Ciencias Biológicas IPN).

DIAGRAMA DE TRABAJO

EN EL SIGUIENTE DIAGRAMA DE FLUJO SE MUESTRAN LAS DISTINTAS FASES LLEVADAS A CABO PARA EL DESARROLLO DEL TRABAJO.



MÉTODOS:

PRUEBA DE LA CATALASA:

PRINCIPIO: La enzima se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo; la excepción principal es el *Streptococcus*.

Los microorganismos que no contienen el sistema citocromo carecen también de la enzima catalasa y por lo tanto, no pueden descomponer al peróxido de hidrógeno, puesto que la enzima catalasa transforma al peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.

TECNICA:

PRUEBA EN PORTAOBJETOS:

1. Con una aguja de punción (asa), transferir células de una colonia pura aislada a la superficie de un portaobjetos.
2. Añadir 1 o 2 gotas de peróxido de hidrógeno.

INTERPRETACION:

PRUEBA POSITIVA: Observación de la aparición rápida y producción de burbujas de gas (formación de O_2) o efervescencia.

PRUEBA NEGATIVA: Indica que no hay formación de burbujas.
(no se forma O_2)

PRUEBA DE BILIS -- ESCULINA:

PRINCIPIO: Esta prueba esta basada en la capacidad de ciertas bacterias en particular los Streptococcus grupo - D de hidrolizar es oulina en presencia de bilis, produciéndose glucosa y esculetina que reacciona con una sal de hierro para formar un complejo marrón oscuro o negro, ennegreciendo el medio Bilis - Esculina.

TECNICA:

1. Al medio Bilis -- Esculina preparado en tubos de ensaye en forma de pico de flauta, con una asa de inoculación se transfieren células de una colonia a la superficie del medio.
2. Estriar la superficie y se introduce el asa hasta aproximadamente 5 mm de la parte inferior del medio.
3. Tapar el tubo e incubar a 37°C 24 hrs.

INTERPRETACION:

PRUEBA POSITIVA: (hidrólisis de esculina): Presencia de un oolor castaño u oscuro en el pico de flauta y el fondo del tubo.

PRUEBA NEGATIVA: No hay ennegrecimiento del medio o puede haber crecimiento, pero esto no indica la descomposición de la esculina; solamente indica que la concentración de bilis inhibió el crecimiento.

to normal de los microorganismos que no corresponden a los — —
Streptococcus grupo — D. (12,20).

PRUEBA DE TOLERANCIA AL CLORURO DE SODIO (NaCl) A UNA
CONCENTRACION DEL 6.5%

PRINCIPIO: La prueba esta basada en la capacidad que presentan los enterococos de desarrollar en un medio líquido que contiene 6.5% de NaCl y que les permite diferenciarse de los Streptococcus grupo — D No enterococos.

TECNICA:

1. Adicionar aseptícamente un inculo denso de un cultivo puro al medio líquido contenido en un tubo de ensaye.
2. Tapar el tubo y mezclar por agitación suave.
3. Incubar el tubo a 37°C 24 hrs.

INTERPRETACION:

REACCION POSITIVA: La prueba positiva es reconocida cuando el indicador vira de color púrpura a amarillo o cuando el crecimiento

es obvio o uniforme, aunque el indicador no vire.

REACCION NEGATIVA: Es reconocida cuando el indicador no vira o cuando no se percibe un crecimiento obvio. El medio líquido queda con su aspecto original. (color púrpura). (12).

HIDROLISIS DE ARGININA

PRINCIPIO: La descarboxilación en general es un proceso por el cual las bacterias que poseen enzimas descarboxilasas específicas son capaces de atacar a los aminoácidos en su grupo carboxilo ($-COOH$), dando una amina o diamina y anhídrido carbónico. El aminoácido L - arginina es catabolizado através de dos sistemas: Sistema de la arginina descarboxilasa y el Sistema de la arginina dehidrolasa; siendo como producto final en los dos sistemas la diamina putrecina y anhídrido carbónico.

TECNICA:

1. Adicionar en forma aséptica un inculo de un cultivo puro al medio líquido de arginina.
2. Con el asa de platino agitar suavemente el medio.

3. Añadir 1 a 2 ml aceite mineral estéril al tubo, para excluir el oxígeno.

4. Tapar el tubo e incubar a 37°C 24 hrs.

INTERPRETACION:

REACCION POSITIVA: La prueba positiva es indicada por el violeta rojizo que vuelve a violeta con aspecto turbio del medio.

REACCION NEGATIVA: Color amarillo claro y brillante (indicando que hubo una reacción ácida; fermentación de glucosa solamente). (12, 20).

FERMENTACION DE LOS HIDRATOS DE CARBONO:

SACAROSA, LACTOSA, MANITOL, Y ARABINOSA, EN MEDIO LIQUIDO

PRINCIPIO: Determinar la capacidad de un microorganismo para fermentar (degradar) un hidrato de carbono específico incorporado a un medio base (solución de Andrade suplementado con 1% de extracto de levadura) produciendo ácido o ácido con gas visible.

TECNICA:

1. Pasar el asa de inoculación sobre el crecimiento de un cultivo puro.

2. Asepticamente, introducir el asa en cada uno de los medios que contienen el carbohidrato y tapar cada tubo.
3. Agitar suavemente cada tubo. No dejar que el líquido salpique la tapa del tubo.
4. Incubar a 37°C 24 horas.

NOTA: La concentración final de cada carbohidrato utilizada en los medios fue del 1%.

INTERPRETACION:

PRUEBA POSITIVA: Aparición de un color rosado en todo el medio (medio ácido).

PRUEBA NEGATIVA: Visualización de una coloración amarilla o incolora (solución original), medio alcalino. (12, 20).

Despues de haber realizado las pruebas bioquímicas anteriormente descritas, se realizó la identificación de grupo y especies de Streptococcus grupo - D de Lancefield de acuerdo a la tabla No. 2.

TABLA NUMERO " 2 "

DIFERENCIACION DE ESPECIES DE STREPTOCOCCUS GRUPO - D

ESPECIES:	PRUEBAS BIOQUIMICAS						
	BILIS -- ESCOLINA	6.5% DE NaCl	ARGININA	SACAROSA	LACTOSA	MANTOL	ARABINOSA
STREPTOCOCCUS AVIUM	+	+	—	+	+	+	+
STREPTOCOCCUS FAEGALIS	+	+	+	+	+	+	—
STREPTOCOCCUS FAECIUM	+	+	+	+	+	+	+
STREPTOCOCCUS DURANS	+	+	+	—	+	—	—
STREPTOCOCCUS BOVIS	+	—	—	+	+	+	—
STREPTOCOCCUS BOVIS VARIANT	+	—	—	+	+	—	—
STREPTOCOCCUS EQUINUS	+	—	—	+	—	—	—

PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS
SISTEMA COMERCIAL UNISEPT -- MIC

PRINCIPIO: Determinar la susceptibilidad de un microorganismo a los antibióticos, por medio de pruebas estandarizadas " in vitro ".

TECNICA:

Método de microdilución en caldo para la determinación de la concentración mínima inhibitoria " in vitro ".

DESCRIPCION:

Este sistema contiene agentes antimicrobianos para microorganismos gram positivos y gram negativos. Los resultados obtenidos son reportados cuantitativamente en microgramos por mililitro.

El sistema Unisept -- MIC esta compuesto de 120 platillos que contienen 22 agentes antimicrobianos suspendidos en un medio de crecimiento liofilizado (Mueller -- Hinton). El antibiótico meticilina (dicloxacilina) contiene cloruro de sodio como suplemento, así mismo los antimicrobianos, amikacina, gentamicina y tobramicina vienen suplementados con magnesio y calcio y trimetoprim/sulfametoxazol con timidin -- fosforilasa. Cada agente antimicrobiano se encuentra a diferentes concentraciones que cubren el rango de la aplicación clínica.

ANTIMICROBIANO:	RANGO mcg/ml	SUPLEMENTO
Tetraciclina (Te) gram (-)	1 - 16	
Dicloxacilina (Meticilina) (Dp)	1 - 16	NaCl
Eritromicina (E)	0.5 - 8	
Clindamicina (Cc)	0.5 - 8	
Vancomicina (Va)	0.5 - 8	
Amikacina (An)	2 - 32	Mg^{2+}/Ca^{2+}
Gentamicina (Gm)	0.5 - 8	Mg^{2+}/Ca^{2+}
Tobramicina (Nn)	0.5 - 8	Mg^{2+}/Ca^{2+}
Trimetoprim/Sulfametoxazol (SxT)	1/19 - 1/76	TIMIDIN-FOSFORILASA
Nitrofurantoina F/M	16 - 64	
Tetraciclina (Te) gram (+)	4 - 8	
Cloranfenicol (C)	1 - 16	
Cefotaxima (Ctx)	2 - 32	
Ceftriaxona (Cefamandol) (Ma)	2 - 32	
Ceftazidima (Cefoxitina) (Fox)	2 - 32	
Cefalotina (Cf)	2 - 32	
Cefoperazona (Cfp)	4 - 64	
Moxalactam (Mox)	4 - 64	
Mezlocilina (Sulbenicilina) (Mz)	16 - 256	
Piperacilina (Pip)	8 - 512	
Carbenicilina (Cb)	8 - 512	
Ampicilina (Am)	0.25 - 16	
Penicilina (P)	0.06 - 16 UI/ml	

PREPARACION DEL INOCULO

- Usando un aplicador estéril (asa), tomar un número suficiente de colonias de la placa de cultivo.
- Suspender en solución salina estéril 0.85% o en agua destilada estéril.
- La suspensión resultante se estandariza al equivalente No. 0.5 de Mac - Farland (BaSO_4) de turbidez standard.
- Mezclar el contenido del tubo.
- Con una pipeta estéril preparar una solución 1:100 de el inóculo dentro de un volumen apropiado de solución salina estéril 0.85% (ph:5.5-7.0).
- Mezclar uniforme.
- Esta es la solución bacteriana de prueba.
- La concentración de este inóculo es de aproximadamente 1×10^6 UFC/ml.

NOTA: La dilución 1:100 se prepara como sigue.

Se toma de la suspensión bacteriana estandarizada 0.1 ml y se adiciona a 9.9 ml de solución salina estéril 0.85% contenida en un --

tubo esteril.

INOCULACION DE LOS PLATILLOS:

- Tomar de la solución bacteriana de prueba con el inculador 50 micro litros.
- Descargar los 50 microlitros del inóculo dentro de cada platillo hasta completar y tapar la microplaca.
- Incubar la microplaca a 35° - 37°C durante 18 - 24 horas.

LECTURA DE LAS PLACAS:

- Después de la incubación, las placas son leídas por la habilidad del microorganismo a desarrollarse en presencia de los antimicrobianos.

El crecimiento puede apreciarse como:

- Turbidez densa o difusa, distribuida uniformemente en todo el plato.
- Fondo difuso o concentrado de crecimiento bacteriano en el fondo del plato o patrón difuso de la bacteria dispersa en todas partes del plato.

- La ausencia de alguna turbidez es considerado como:

" NO DESARROLLO ".

INTERPRETACION:

SUSCEPTIBLE: El microorganismo infectante es inhibido por niveles de antimicrobiano alcanzado en sangre o tejido en dosis usual, incluyendo la administración oral.

RESISTENTE: El microorganismo infectante es resistente usualmente a los niveles antimicrobianos.

Por lo tanto la concentración mínima inhibitoria (MIC)₉₀ representa la concentración de antimicrobiano capaz de producir inhibición visual de crecimiento.

R E S U L T A D O S

Durante un periodo comprendido entre enero y marzo de 1989, se trabajaron un total de 905 muestras en el laboratorio de Bacteriología, de donde se reportaron 120 aislamientos de Streptococcus grupo - D (incidencia de 13.30%), provenientes la mayoría de ellos de exudado vaginal; 77 (33.30%), de 231 y orina; 14 (4.5%) de 311. Además se obtuvieron aislamientos provenientes de exudado uretral, líquido seminal, líquido perianal, exudado faríngeo, herida quirúrgica, traqueostomía, exudado traqueal, catéter, cultivo de sonda foley, líquido pleural, cultivo ótico y cultivo de secreción (umbilical, del meato urinario, de herida de la fosa poplitea y otras secreciones) como se indica en la tabla 3.

Los Streptococcus grupo - D aislados se encontraron asociados comúnmente a Staphylococcus sp. coagulasa negativa y Escherichia coli.

Todos los Streptococcus grupo - D aislados no presentaron reacción hemolítica en placas de agar sangre y la prueba de la catalasa fue negativa.

La identificación de género y especie fue realizada por pruebas

bioquímicas convencionales de acuerdo con el esquema de identificación previamente mencionado (Tabla 2).

En base a los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas de los 120 aislamientos, 69 (57.5%) fueron identificados como Streptococcus faecalis y 48 (40%) como Streptococcus faecium. Durante el estudio solo se identificó un Streptococcus durans (0.83%), un Streptococcus avium (0.83%) y un Streptococcus grupo D No enterococo, Streptococcus bovis (0.83%). (Gráfica 1).

De los 69 Streptococcus faecalis aislados; 44 provenían de exudado vaginal, 7 de orina, 1 de exudado uretral, 4 de líquido seminal, 1 de líquido perianal, 3 de cultivo de secreción, 2 de exudado faríngeo, 1 de herida quirúrgica, 2 de cultivo de catéter y 4 de cultivo ótico. Así mismo, de los 48 Streptococcus faecium aislados; 32 fueron aislados de exudado vaginal, 7 de orina, 2 de exudado uretral, 1 de líquido perianal, 1 de secreción, 1 de exudado faríngeo, 1 de herida quirúrgica, 1 de traqueostomía, 1 de exudado traqueal y 1 de cultivo ótico.

En tanto que, los únicos Streptococcus durans, Streptococcus avium y Streptococcus bovis aislados se obtuvieron de líquido pleural, cultivo de sonda foley y exudado vaginal respectivamente. (datos

resumidos en la tabla 4). No hubo aislamientos de las especies bovis - variant y equinus de las muestras clínicas trabajadas durante el estudio.

Los porcentajes de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos para los Streptococcus grupo - D son presentados en la gráfica 2.

Observandose que fueron más susceptibles en el orden siguiente a mezlocilina > piperacilina > trimetoprim/sulfametoxazol > nitrofurantoina > vancomicina > cloranfenicol > cefoperazona, disminuyendo la sensibilidad a ampicilina, cefalotina y tetraciclina y practicamente resistentes a cefotaxima, cefoxitina, cefamandol, gentamicina, moxalactam, netilmicina, tobramicina, eritromicina, amikacina, metilcilina, clindamicina y penicilina.

Las gráficas 3 y 4 exhiben los resultados de las pruebas de susceptibilidad " in vitro " por el método de microdilución para — — Streptococcus faecalis y Streptococcus faecium respectivamente, los resultados son reportados como porcentaje de especies sensibles.

El 62.30% de las cepas de Streptococcus faecalis fue sensible a mezlocilina, 60.90% a piperacilina, 53.60% a trimetoprim/sulfametyazol, 47.80% a nitrofurantoina, 46.40% a vancomicina, 40.60% a

cefoperazona, 36.20% a cloranfenicol, 30.40% a cefalotina, 19.20% a ampicilina, 18.80% a tetraciclina, 15.90% a amikacina, 13.00% a cefotaxima y cefamandol, 11.60% a cefoxitina, 10.10% a gentamicina, 8.70% a netilmicina, tobramicina y eritromicina. El 5.80%, 4.30% y el 2.90% de los Streptococcus faecalis fue susceptible a moxalactam, meticilina y clindamicina respectivamente y todos fueron resistentes a penicilina.

el 75% de las especies de Streptococcus faecium fueron sensibles a mezlocilina, 72.90% a piperacilina, 70.80% a trimetoprim/sulfametoxazol, 62.5% a nitrofurantoina, 56.20% a cloranfenicol, 52.10% a vancomicina, 45.80% a cefoperazona, 37.60% a tetraciclina, 31.20% a ampicilina, 27.10% a cefalotina, 14.60% a amikacina, netilmicina y gentamicina, 12.5% a tobramicina, moxalactam y cefotaxima, 10.40% a cefamandol y cefoxitina, 8.30% a eritromicina, 6.20% a meticilina, 2.10% a clindamicina y ninguna cepa fue sensible a penicilina.

Streptococcus durans y Streptococcus avium presentaron un patrón de sensibilidad similar, puesto que fueron susceptibles a cloranfenicol, cefotaxima, cefoxitina y moxalactam y resistentes a tetraciclina, meticilina, eritromicina, clindamicina, vancomicina, amikacina, netilmicina, gentamicina, tobramicina, trimetoprim/sulfametoxazol, nitrofurantoina, cefamandol, cefalotina, cefoperazona, mezlocilina,

piperacilina, ampicilina y penicilina.

Streptococcus bovis fue sensible a vancomicina, trimetoprim/sulfa metoxazol, nitrofurantoina, cloranfenicol, mezlocilina, piperacilina, y penicilina. Resistente a tetraciclina, meticilina, eritromicina, clindamicina, amikacina, netilmicina, gentamicina, tobramicina, cefotaxima, cefamandol, ceftioxitina, cefalotina, cefoperazona, moxalactam y ampicilina.

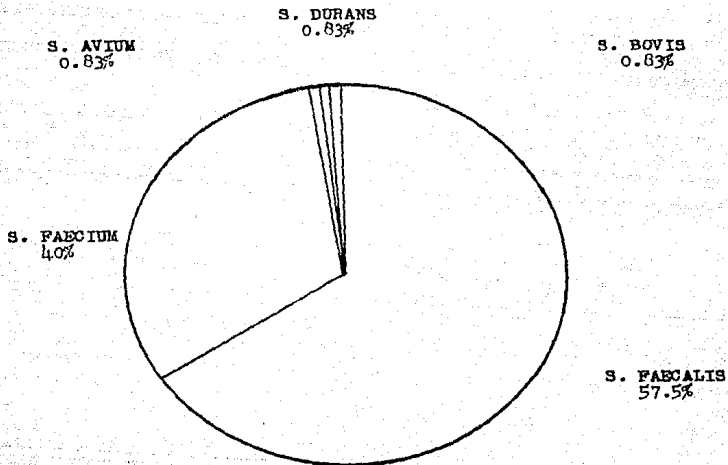
FRECUENCIA DE STREPTOCOCCUS GRUPO - D
 EN UN PERIODO DE 35 DIAS (ENTRE ENERO Y MARZO)
 AISLADOS EN EL LABORATORIO CLINICO

PRODUCTO BIOLOGICO	TOTAL DE MUESTRAS TRABAJADAS	S.GPO.-D AISLADOS	%
UROCULTIVO	311	14	4.5
EXUDADO VAGINAL	231	77	33.3
EXUDADO URETRAL	4	3	75.0
ESPERMATOCULTIVO	11	4	36.4
LIQUIDO PERIANAL	2	2	100
CULTIVO DE SECRECION	45	4	8.9
EXUDADO FARINGEO	121	3	2.5
HERIDA QUIRURGICA	38	2	5.3
TRAQUEOSTOMIA	6	1	16.7
EXUDADO TRAQUEAL	5	1	20.0
CULTIVO DE CATETER	33	2	6.0
CULTIVO SONDA FOLEY	1	1	100
LIQUIDO PLEURAL	1	1	100
CULTIVO OTICO	96	5	5.2

NOTA: El porcentaje de aislamiento de Streptococcus grupo - D es en base a cada tipo de muestras clinicas trabajadas durante el presente estudio.

GRAFICA 1.

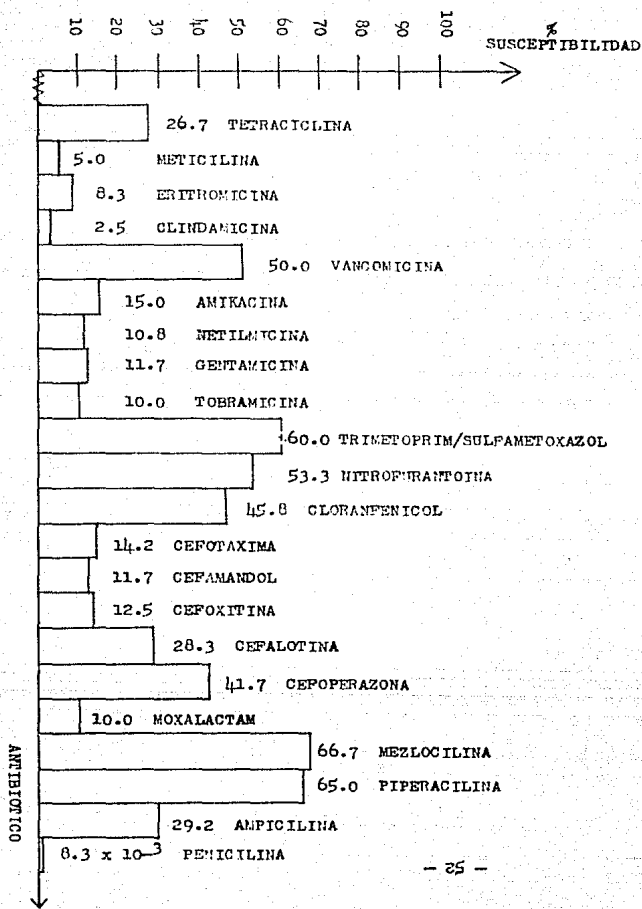
FRECUENCIA DE ESPECIES DE
STREPTOCOCCUS GRUPO - D AISLADOS
DE DIVERSAS MUESTRAS CLINICAS




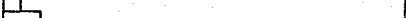




















NUMERO DE ESPECIES DE STREPTOCOCCUS GRUPO - D
AISLADOS DE DIVERSAS MUESTRAS CLINICAS

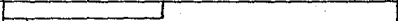



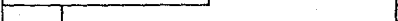


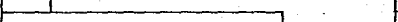
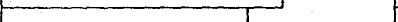
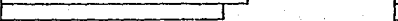








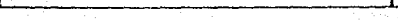



PRODUCTO BIOLÓGICO	S. PAECALIS	S. FAECTUM	S. DURANS	S. AVIUM	S. BOVIS	TOTAL DE ESPECIE	%
EXUDADO VAGINAL	44	32	-	-	1	77	64.2
ORINA (UROCULTIVO)	7	7	-	-	-	14	11.7
EXUDADO URETRAL	1	2	-	-	-	3	2.5
ESPERMATOCULTIVO	4	-	-	-	-	4	3.3
LIQUIDO PERIANAL	1	1	-	-	-	2	1.7
CULTIVO DE SECRECION	3	1	-	-	-	4	3.3
EXUDADO FARINGEO	2	1	-	-	-	3	2.5
HERIDA QUIRURGICA	1	1	-	-	-	2	1.7
TRAQUEOSTOMIA	-	1	-	-	-	1	0.83
EXUDADO TRAQUEAL	-	1	-	-	-	1	0.83
CULTIVO DE CATETER	2	-	-	-	-	2	1.7
CULTIVO SONDA FOLEY	-	-	-	1	-	1	0.83
LIQUIDO PLEURAL	-	-	1	-	-	1	0.83
CULTIVO OTICO	4	1	-	-	-	5	4.2
TOTAL						120	

GRAFICA 2.
 PORCENTAJE DE SUSCEPTIBILIDAD A LOS
 AGENTES ANTIMICROBIANOS DE LAS 120 ESPECIES
 DE STREPTOCOCCUS GRUPO - D AISLADOS



GRAFICA 3.

ANTIBIOTICO	PORCENTAJE DE SUSCEPTIBILIDAD "IN VITRO" DE STREPTOCOCCUS FAECALIS	%
TETRACICLINA		18.8
METICILINA		4.3
ERTROMICINA		8.70
CLINDAMICINA		2.9
VANCOMICINA		46.4
AMIKACINA		15.94
NETILMICINA		8.70
GENTAMICINA		10.1
TOBRAMICINA		8.70
TRIMETOPRIM/SULFAMETOXAZOL		53.6
NITROFURANTOINA		47.8
CLORAFENICOL		36.2
CEFOTAXIMA		13.0
CEFAMANDOL		13.0
CEFOXITINA		11.6
CEFALOTINA		30.4
CEFOPERAZONA		40.6
MOXALACTAM		5.80
MEZLOCILINA		62.3
PIPERACILINA		60.9
AMPICILINA		19.2
PENICILINA		0

ANTIBIOTICO	PORCENTAJE DE SUSCEPTIBILIDAD "IN VITRO" DE STREPTOCOCCUS FAECIUM	%
TETRACICLINA		39.6
METICILINA		6.2
ERITROMICINA		8.3
CLINDAMICINA		2.1
VANCOMICINA		52.1
AMIKACINA		11.6
NETILMICINA		14.6
GENTAMICINA		11.6
TOBRAMICINA		12.5
TRIMETOPRIM/SULFAMETOXAZOL		70.8
NITROFURANTOINA		62.5
CLORAMFENICOL		56.2
CEFOTAXIMA		12.5
CEFAMANDOL		10.4
CEFOXITINA		10.4
CEFALOTINA		27.1
CEFOPERAZONA		45.8
MOXALACTAM		12.5
MEZLOCILINA		75.0
PIPERACILINA		72.9
AMPICILINA		31.2
FENICILINA		0

GRAFICA 7

C O N C L U S I O N E S

1. La mayor frecuencia de Streptococcus grupo - D, se observó en las muestras provenientes de exudado vaginal y orina.
2. La mayor parte de Streptococcus grupo - D esta representado por dos especies; particularmente Streptococcus faecalis y Streptococcus faecium.
3. Las pruebas bioquímicas convencionales deben considerarse como pruebas importantes de rutina para diferenciar las especies de Streptococcus grupo - D.
4. Del grupo de las penicilinas; la mezlocilina y piperacilina fueron antibióticos activos frente a Streptococcus grupo - D principalmente Streptococcus faecalis y Streptococcus faecium.
5. La penicilina fue efectiva frente a Streptococcus bovis perteneciente a Streptococcus grupo - D No enterococos.
6. Las pruebas de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos debería llevarse a cabo en forma rutinaria en este grupo de Streptococcus debido a su alta resistencia a los antibióticos.

7. El sistema comercial UNISEPT - MIC utilizado para las pruebas de susceptibilidad presenta ventajas sobre otros métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana.

- Incorpora varios agentes antimicrobianos a diferentes concentraciones en el mismo sistema de prueba.
- Permite establecer directamente la concentración de antibiótico incorporado a la cual el microorganismo de prueba es sensible o resistente.
- Hace factible evaluar satisfactoriamente la susceptibilidad a los antibióticos de bacterias gram positivas y gram negativas.

D I S C U S I O N

La mayoría de los laboratorios clínicos no identifican a los Streptococcus grupo - D o sólo los identifican presuntivamente como enterococos y Streptococcus grupo - D No enterococos, mediante las pruebas de bilis - esculina y tolerancia al cloruro de sodio. La identificación de especies puede ayudar al médico en la elección de una terapia antimicrobiana apropiada, puesto que los Streptococcus grupo - D, principalmente los enterococos, en particular Streptococcus faecalis y Streptococcus faecium son resistentes a varios agentes antimicrobianos. Así mismo la identificación de especies fundamentalmente de enterococos puede permitir detectar los brotes de epidemia en un nosocomio. (26).

El método de identificación convencional que incluye pruebas bioquímicas, es un procedimiento efectivo para la diferenciación de especies.

La importancia en el laboratorio es distinguir las especies de Streptococcus grupo - D, puesto que se ha demostrado actualmente que este grupo de microorganismos, particularmente los enterococos forman el tercer grupo de agentes infecciosos causantes de endocarditis. (7).

Los Streptococcus grupo - D al exparcirse de su habitat normal (tracto gastrointestinal) puede causar bacteremia, colescistitis e infecciones en heridas, y son considerados como agentes causa les de abscesos pelvicos y peritonitis. También los enterococcos pueden ser aislados de tejidos blandos y de la parte intraabdomi nal cuando existen procesos infecciosos.

Streptococcus faecalis, el más comunmente aislado, es considerado como patógeno primario importante en las endocarditis bacteriana, se tienen reportes de incidencia del 15% y de infecciones del trac to urinario. (11, 29).

Streptococcus faecium, el otro enterococo más frecuentemente aisla do en la clínica, puede ser causante de infecciones en el nosocomio. Existe un reporte de seps'is neonatal con producción de bacteremia y meningitis debida a este microorganismo. (27).

Streptococcus bovis en la actualidad es reconocido como un agente causante de endocarditis y la bacteremia por esta especie es aso - ciada con neoplasias del tracto gastrointestinal, especialmente carcinoma de colón, adenocarcinoma metastásico de estóma go y diver ticulosis. (22, 35).

Con respecto al presente trabajo, la frecuencia de aislamiento de Streptococcus grupo - D, se observó en mayor cantidad en las muestras de exudado vaginal, sin menospreciar las cepas obtenidas de orina, uretra, líquido seminal, líquido perianal, de traqueostomía y exudado traqueal. Pese al bajo número de aislamientos, estos microorganismos siempre estuvieron presentes, principalmente las especies faecalis y faecium.

Las especies: faecalis y faecium fueron las más frecuentemente aisladas 57.5% y 40.0% respectivamente. (Datos exhibidos en la gráfica 1), lo cual correlaciona con los datos reportados en la bibliografía.

Las especies durans, avium aislados de líquido pleural y de sonda de foley (colocada en vejiga urinaria) junto con las cepas de Streptococcus faecalis y Streptococcus faecium aislados de secreción umbilical, exudado faríngeo, orina, exudado vaginal, uretra, exudado traqueal y líquido perianal confirman que Streptococcus grupo - D son frecuentemente parte de la flora normal de tracto gastrointestinal, uretra y vagina, particularmente los enterococos y que al esparcirse de su localización habitual, pueden producir procesos infecciosos. Streptococcus bovis aislado de exudado vaginal predice que hubo colonización, puesto que este microorganismo es habitante normal de la porción intestinal en humanos y animales.

Las cepas provenientes de herida quirúrgica, cultivo ótico; traqueostomía y fosa poplitea, son indicativos de la translocación de los Streptococcus grupo - D de su sitio original y ser agentes causantes de procesos infecciosos, seguida de una manipulación mecánica.

Las pruebas bioquímicas empleadas para este estudio, permitió diferenciar adecuadamente los grupos y especies de las 120 cepas aisladas.

Con respecto a la resistencia que presentaron los Streptococcus grupo - D aislados a aminoglucósidos como: amikacina, gentamicina, tobramicina y netilmicina, puede ser explicada posiblemente debido a la presencia de enzimas modificadoras de aminoglucósidos, mediada por plásmidos, que requerirían para su confirmación pruebas de hibridación de DNA no accesibles a nosotros en este momento.

La resistencia que presentaron los Streptococcus grupo - D, principalmente Streptococcus faecalis y Streptococcus faecium, a cloranfenicol, eritromicina (macrolido) y tetraciclina, puede ser por la presencia de marcadores de resistencia mediados por plásmidos, y que son transmitidos por transducción o conjugación. (6).

La resistencia a cloranfenicol en las cepas de Streptococcus faecalis y Streptococcus faecium aislados puede ser explicada por

la posible producción de la enzima cloranfenil acetil transferasa, la cual destruye la actividad del medicamento. (6).

La moderada resistencia que presentan los Streptococcus grupo - D enterococos a vancomicina puede ser debido a la aparición de mutantes resistentes. (6).

No obstante, las cepas sensibles al antibiótico ponen de manifiesto que la vancomicina podría ser usada en combinación con otros antibióticos, por ejemplo aminoglucósidos para la erradicación de estos microorganismos; puesto que particularmente los enterococos son más tolerantes al efecto bactericida de la vancomicina que — Streptococcus bovis, el cual fue susceptible a este agente químico terapéutico.

La resistencia que presentaron los Streptococcus grupo - D a la clindamicina puede ser originada por la aparición de mutantes cromosómicos resistentes en virtud de la falta de sitios adecuados de enlace sobre la subunidad 50S del ribosoma bacteriano, ya que la resistencia mediada por plásmidos no se ha establecido con certeza.

El trimetoprim/sulfametoxazol, uno de los agentes antibacteriano

más activo frente a los microorganismos analizados en el presente trabajo, presenta un sinérgismo antimicrobiano, el cual puede ser por bloqueo de los pasos secuenciales en una vía metabólica esencial.

La inhibición de dihidropterato sintetasa y de la dihidrofolato reductasa caminos en la síntesis de ácido fólico resultaron en sinérgismo bactericida sobre la mayor parte de las cepas de Streptococcus grupo - D aislados. Aunque estudios actuales sugieren que el trimetoprim/sulfametoxazol no puede considerarse como agente bactericida, a menos que pruebas adicionales en modelos animales exhiban la eficacia de este antibiótico. (1, 18).

La nitrofurantoina, que exhibió un moderado efecto sobre las cepas de Streptococcus grupo - D (Streptococcus faecalis, Streptococcus faecium y Streptococcus bovis), puede en un momento dado utilizarse para el tratamiento de infecciones urinarias causadas por estos microorganismos por su efecto bacteriostático y bactericida que presenta. (6).

Dicloxacilina (metecilina), antibiótico resistente a beta lactamasa, es la mejor penicilina que existe actualmente para uso general en infecciones de bacterias gram positivas, no produjo un efecto

antimicrobiano considerable frente a las cepas de *Streptococcus* grupo - D, como se observa en los resultados exhibidos en la gráfica 2 (solo el 5% de este grupo de microorganismos fue sensible al antibiótico), probablemente a la resistencia " in vitro " por un mecanismo desconocido que no está relacionado con la producción de enzimas penicilinasas. (24). Si no con mecanismos de transporte a nivel de membrana celular.

Con respecto a las cefalosporinas, cefalotina, cefamandol, cefoxitina, cefotaxima, cefoperazona y moxalactam; analizadas en este trabajo, la cefoperazona fue la más activa, inhibió el 41.7% de las cepas de *Streptococcus* grupo - D (dato expuesto en la gráfica 2).

La resistencia observada a estos antibióticos es probablemente debida a la producción de beta lactamasa por este grupo de bacterias (cefalosporinasa), capaz de desdoblar el anillo beta lactámico de las cefalosporinas, trayendo como consecuencia la inactivación del antimicrobiano y nulificando su actividad antibacteriana.

La mezlocilina y la piperacilina del grupo de las penicilinas, fueron los compuestos más activos, inhibieron " in vitro " el 66.7% y 65% de las cepas de *Streptococcus* grupo - D analizadas respecti

vancomina. Los datos se muestran en la gráfica IV. Streptococcus de las especies faecalis y faecium presentaron una sensibilidad de 66,6% a 75,0% a meropenem y 66,6% y 75,0% a piperacilina respectivamente. Los datos se muestran en las gráficas I y II.

Streptococcus bovis también fue sensible a meropenem y piperacilina, sin embargo no lo fueron las especies avium y durans.

La resistencia observada a las penicilinas: ampicilina, piperacilina, meropenem y penicilina por algunas especies de Streptococcus y faecium y por las especies avium y durans, es porque estas especies pudieran presentar enzimas beta lactamasas, medida la producción de estas sustancias por plásmidos, que es el mecanismo más común de resistencia a los agentes quimioterapéuticos por Streptococcus grupo - D.

La sensibilidad que presentó Streptococcus bovis a vancomicina, trimetoprim/sulfametoxazol, nitrofurantoína, cloranfenicol, moxifloxacilina, piperacilina y penicilina solamente y resistente a los demás antibióticos analizados: tetraciclina, metilicina, eritromicina, clindamicina, amikacina, netilmicina, gentamicina, tobramicina, cefotaxima, cefamandol, cefoxitina, cefalotina, cefoperazona, moxalactam, y ampicilina, indica que estos microorganismos junto con

los enterococos faecalis y faecium han aumentado su resistencia a múltiples medicamentos.

La ausencia de actividad de aminoglucósidos, cefalosporinas y otros antibióticos beta lactámicos, por ejemplo ampicilina en las especies de Streptococcus bovis puede estar mediada por la presencia de enzimas. (35).

No obstante la penicilina presenta eficacia contra esta especie, lo que implica que este agente puede ser útil en el tratamiento de infecciones causadas por este microorganismo.

De los 22 agentes antimicrobianos analizados los más efectivos fueron mezlocilina piperacilina, trimetoprim/sulfametoxazol y nitrofurantoina, pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones con estas cepas de Streptococcus grupo - D. Sin embargo la actividad contra enterococos no es efectiva para usarlos en el tratamiento de infecciones sistémicas severas como endocarditis.

El cloranfenicol, cefoperazona y vancomicina, en un momento dado pueden ser una alternativa útil en el tratamiento de infecciones por Streptococcus grupo - D, debido a la moderada susceptibilidad que presentaron a estos antibióticos. Sin embargo, es preciso

realizar pruebas de susceptibilidad para lograr una terapia anti microbiana eficaz contra estos microorganismos, puesto que -- -- Streptococcus grupo - D primordialmente los enterococos tienen una marcada resistencia a múltiples agentes quimioterapéuticos.

Por lo tanto, solo resta afirmar que la identificación de especies de Streptococcus grupo - D por el método convencional y pruebas de susceptibilidad en el laboratorio clínico debe ser de rutina necesaria. El presente trabajo y la literatura anexada ponen de manifiesto que los Streptococcus grupo - D, en particular Streptococcus faecalis y Streptococcus faecium, los más frecuentemente aislados son altamente resistentes a los agentes quimioterapéuticos, por lo que la identificación de especies debe ser importante en el manejo de la terapia del paciente y además se puede establecer su importancia epidemiológica.

R E S U M E N

Se estudiaron 120 aislamientos de Streptococcus grupo - D, procedentes de diversas muestras clínicas (exudado vaginal, orina, líquido peritoneal, exudado traqueal, traqueostomía, exudado faríngeo, líquido seminal, exudado uretral, herida quirúrgica, cateter, cultivo de sonda foley, líquido pleural cultivo ótico y secreción), de pacientes hospitalizados y de consulta externa del Hospital Regional 20 de noviembre — ISSSTE. En un período comprendido entre enero y marzo de 1989, con el fin de determinar la frecuencia de aislamientos de Streptococcus grupo - D de Lancefield en productos biológicos, así como diferenciar las distintas especies pertenecientes a este grupo de bacterias, en el laboratorio clínico.

Por medio del conjunto de pruebas bioquímicas (bilis - esculina, tolerancia al cloruro de sodio al 6.5%, hidrólisis de arginina y utilización de carbohidratos; lactosa, sacarosa, manitol, y arabinosa) fue posible diferenciar en este grupo de 120 copas: 69 — Streptococcus faecalis, 48 Streptococcus faecium, 1 Streptococcus avium, 1 Streptococcus durans y 1 Streptococcus bovis.

Así mismo, se observó que el mayor número de aislamientos de Streptococcus grupo - D proviene de exudado vaginal y orina.

Se determinaron también a los Streptococcus grupo - D aislados pruebas de susceptibilidad " in vitro " a los agentes antimicrobiales; amikacina, ampicilina, carbenicilina, cefamandol, cefoperazona, cefotaxima, ceftioxitina, cefalotina, cloranfenicol, clindamicina, eritromicina, gentamicina, meticilina, mezlocilina, moxalactam, nitrofurantoina, penicilina, piperacilina, trimetoprim/sulfametoxazol, tetraciclina, tobramicina, y vancomicina, observandose que la mezlocilina, piperacilina trimetoprim/sulfametoxazol y nitrofurantoina fueron los más activos frente a Streptococcus grupo - D de Lancefield.

A P E N D . I C E

MEDIO BILIS — ESCULINA

INGREDIENTES:

Extracto de carne de res.....	3 gr.
Peptona de caseína.....	5 gr.
Agar — Agar.....	15 gr.
Bilis de buey.....	40 gr.
Esculina.....	1 gr.
Citrato férrico amoniacal.....	0.5gr.
Agua destilada.....	100 ml.

PREPARACION:

- Disolver el extracto de carne, peptona y el agar en 400 ml de agua destilada; calentar hasta que halla un colóide, mezclar la bilis de buey con 400 ml de agua destilada y calentar en solución. Mezclar el citrato férrico con 100 ml de agua destilada y calentar en solución.
- Combinar las soluciones. Calentar a 100°C por 10 minutos.
- Autoclavear a 121°C, 15 minutos. Enfriar a 50°C (Esta es la base del medio).

- Asepticamente adicionar 100 ml de solución de esculina (100 ml de agua más 1 gr de esculina, calentar suavemente hasta obtener una solución y esterilizar por filtración).

- Distribuir dentro de tubos esteriles de 16 x 125 mm con rosca y tapar.

- Apretar la tapa y enfriar en posición inclinada.

(12).

PRUEBA DE TOLERANCIA AL CLORURO DE SODIO
PARA STREPTOCOCCUS

INGREDIENTES:

Caldo de infusión cerebro - corazón.....	25 gr.
Cloruro de sodio (NaCl).....	60 gr.
Indicador (1.6gr de púrpura de — bromocresol en 100 ml de etanol al 95%.....	1 ml.
Glucosa.....	1 gr.
Agua destilada.....	1000 ml.

PREPARACION:

- Adicionar todos los reactivos, a los 1000 ml de agua destilada; no compensar el volumen perdido causado por el cloruro de sodio.
- El volumen final deberá ser 1000 ml.
- Distribuir en tubos de rosca de 15 x125 mm con tapón y autoclavear a 121°C, 15 minutos, 15 libras de presión.

MEDIO DE ARGININA
(MEDIO MOELLER PARA DESCARBOXILASA)

INGREDIENTES:

Peptona (Orthana especial)..... (Peptona de caseína).	5 gr.
Extracto de carne de res.....	5 gr.
Púrpura de bromocresol.....	0.010 gr.
Rojo de cresol.....	0.005 gr.
Piridoxal.....	0.005 gr.
L - Arginina.....	10 gr.
Agua destilada.....	1000 ml.

PREPARACION:

- Disolver los componentes de la formula, en agua destilada.
- Ajustar el pH de 6.0 - 6.5. Distribuir 3 ml dentro de tubos de 13 x 100 mm con rosca y tapar.
- Esterilizar en autoclave 15 minutos a 121°C.

MEDIO PARA LA PRUEBA DE FERMENTACION DE HIDRATOS
DE CARBONO.

SOLUCION DE ANDRADE:

INGREDIENTES:

Extracto de carne.....	3 gr.
Peptona.....	10 gr.
Cloruro de sodio.....	5 gr.
Indicador de andrade.....	10 ml.
Extracto de levadura..... (suplemento).	10 gr.
Agua destilada.....	1000 ml.
pH.....	7.2

PREPARACION:

- Pesar exactamente las cantidades como se indica.
- Sumar los ingredientes y rehidratar con agua destilada (1000ml).
- Calentar suavemente hasta solución.

- Agregar 10 ml de indicador de pH de Andrade. (en concentración del 1%).
- Ajustar el pH a 7.1 - 7.2 con NaOH 1N.
- Esterilizar en una autoclave a 121°C, 15 libras, 15 minutos.
- Distribuir 3 ml en tubos de 13 x 100 mm de rosca y tapar.
- Agregar a la solución base, la solución de azúcar preparada previamente.

(20).

PREPARACION DE AZUCARES

(SACAROSA, LACTOSA, MANITOL, ARABINOSA).

INGREDIENTES:

Azúcar..... 10 gr.
Agua destilada..... 200 ml.

PREPARACION:

- Pesar exactamente cada azúcar y disolver por separado en agua destilada.
- La solución de azúcar se esteriliza por filtración.
- Agregar la solución de azúcar a la base.

(12, 20).

INDICADOR DE ANDRADE
SOLUCION AL 1%

INGREDIENTES:

Fucsina ácida..... 5 gr.
Agua destilada..... 1000 ml.
Hidroxido de sodio 1N..... 150 - 180 ml.

Disolver la fucsina ácida en agua destilada y agregar 150 ml de la solución de álcali. Mezclar y dejar reposar la mezcla a temperatura ambiente durante 24 hrs. agitando frecuentemente. El color rojo deberá transformarse en un color castaño. Si el color no ha sido lo suficientemente decolorado agregar otros 10 ml. de álcali; mezclar perfectamente y dejar reposar otras 24 horas.

Pueden hacerse adiciones subsecuentes de álcali. El color final deseado es de un amarillo paja y el propósito es alcanzar esta coloración con la mínima cantidad de álcali.

pH 7.2 (rango PH: 5 - 8).

Concentración mínima inhibitoria (MIC) de los agentes antimicrobianos analizados en este estudio, basados en los valores estandarizados por el método de difusión en disco.

AGENTE ANTIMICROBIANO:	MIC mcg/ml (SUSCEPTIBILIDAD) .
Tetraciclina.....	4
Meticilina.....	3
Eritromicina.....	0.5
Clindamicina.....	0.5
Vancomicina.....	5
Amikacina.....	16
Netilmicina.....	12
Gentamicina.....	4
Tobramicina.....	4
Trimetoprim/Sulfametoxazol.....	2/38
Nitrofurantoina.....	25
Cloranfenicol.....	12.25
Cefotaxima.....	8
Cefamandol.....	8
Cefoxitina.....	8
Cefalotina.....	8

Cefoperazona.....	≧	16
Moxalactam.....	≧	8
Mezlocilina.....	≧	64
Piperacilina.....	≧	64
Ampicilina.....	≧	1.25
! Penicilina.....	≧	0.12

! Valor indicado para Streptococcus grupo - D No enterococos.

The antimicrobic newsletter; vol. 5 No. 2, february 1988.

B I B L I O G R A P H I A

1. Amjad Najjar and Barbara E. Murray; Failure to demonstrate a consistent in vitro bactericidal effect of trimethoprim -- Sulfamethoxazole against enterococci; Antimicrobial agents and chemotherapy, May. 1987 Vol. 31, No.5, p. 808 - 810.
2. Andrew H. Kaplan, Peter H. Gilligan, and R.R. Facklam; Recovery of resistant enterococci during vancomycin prophylaxis; Journal of clinical microbiology, June 1988. Vol. 26, No. 6. p. 1216 - 1218.
3. Audrey R. Wanger and Barbara E. Murray; Activity of LY146032 Against Enterococci with and without High - Level Aminoglycoside resistance, including two penicillinase - producing - strains; Antimicrobial agents and chemotherapy, Nov. 1987. Vol. 31, No. 11, p 1779 - 1781.
4. Barbara A. Atkinson and Victor Lorian; Antimicrobial agent susceptibility patterns of bacteria in hospitals from 1971 to 1972; Journal of clinical microbiology oct. 1984. Vol. 20 No. 4. p. 791 - 796.

5. Bernard J. Davis M.D.; Renato Dulbecco, M.D.; Herman N. Eisen. Harold S. Ginsberg, M.D.; Barry Wood, JR. M.D.: Tratado de Microbiología; 2a. ed. Salvat Editores, S.A.; Barcelona España, 1978; cap. 26 - Estreptococos; pp. 730 - 749.
6. Bertram G. Katzung: Farmacología Básica y clínica; 3a. ed. Manual Moderno, México D.F. 1987. cap. 42, 43, 44, 45, 46, 51, pp 527 - 557, 566 - 570, 585 - 588.
7. Charles W. Stratton, Connie Liu, Hilda B. Ratner, and Lyndell S. Weks; Bactericidal activity of daptomycin (LY146032) compared with those of ciprofloxacin, vancomycin, and ampicillin against enterococci as determined by K11 - kinetic studies; antimicrobial agents and chemotherapy: July 1987, Vol. 31 No.7 p. 1014 - 1016.
8. C. J. Smith, Helen Matthews, M. K. Halpenny, H. Brandis and G. Colman: biotyping, serotyping, and phage - typing of Streptococcus Faecalis isolated from dental plaque in the human mouth; J. Med. Microbiology; Vol. 23 (1987), p. 45 - 54.
9. Claudie Thauvin, George M. Eliopoulos, Sandra Willey, Christine Wennorsten, and Robert C. Moellering, JR: Continuous - infusión ampicillin therapy of enterococcal endocarditis in rats; Antimicrobial agents and chemotherapy, feb. 1987 Vol. 31. No. 2 p. 139 - 143.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

10. Daniel F. Sahn, Carolyn N. Baker, R. N. Jones, and Clyde Thornsberry; Medium dependt zone size discrepancies associated with susceptibility testing of group - D Streptococci against various cephalosporins; Journal of clinical microbiology, oct. 1983. Vol. 18, No. 4 p. 858 - 865.
11. Eileen J. Aitchison, Peter A. Lambert, E. Grace Smith and Ian D. Farrell; Serodiagnosis of Streptococcus faecalis endocarditis by immunoblotting of surface protein antigens; Journal of clinical microbiology, feb. 1987. Vol. 25. No. 2 p. 211 - 215.
12. Edwin H. Lennette, Albert Balows, William J. Hausler, JR. H Jean Shadomy; Manual of clinical microbiology; american society for Microbiology Washington D.C. USA 1985; Fourth edition; Chapter 16, 111; pp 154 - 175, 1051 - 1098.
13. Elmer W. Koneman; Stephen D. Allen; V.R. Dowel (h); Herbert M. Sommers; Diagnostico Microbiológico; Ed. Médica Panamericana; Buenos Aires Argentina 1983; cap. 7 cocos gram positivos , pp. 296 - 307.
14. Ernest Jawetz, Joseph L. Melnick, Edward A. Adelberg; Manual de Microbiología médica; ed. manual moderno, 5a. ed. México, D.F. 1975; cap. 14 cocos piógenos; pp. 202 - 212.

15. Francisco L. Sapico, Virginia J. Gimunas, Hanna N. Canawati, and John Z. Montgomerie; LY146032, alone and in combination with gentamicin, for the treatment of enterococcal pyelonephritis in the rat model; antimicrobial agents and chemotherapy, Jan. 1988. Vol. 32. No. 1. p. 81 - 83.
16. George M. Eliopoulos, Bruce F. Farber, Barbara E. Murray, Christine Wennersten, and Robert C. Moellering, JR; Ribosomal resistance of clinical enterococcal to Streptomycin isolates; antimicrobial agents and chemotherapy. Mar. 1984. Vol. 25, No. 3. p. 398 - 399.
17. G. S. Bosley, R. R. Faeklam, and D. Grosman; Rapid identification of enterococci; journal of clinical microbiology, November 1983 Vol. 18 No. 5 1275 - 1277.
18. G. M. Eliopoulos and C. T. Eliopoulos; Antibiotic combinations; Should they be tested?; clinical microbiology reviews; Apr. 1988 Vol. 1 No. 2 p. 139 - 156.
19. Jan Evans Patterson, Barbara L. Masecar, and Marcus J. Zervos; Characterization and comparison of two penicillinase producing strains of Streptococcus (enterococcus) faecalis; Antimicrobial agents and chemotherapy, Jan. 1988. Vol. 32 No. 1 pp. 122 - 124.

20. Jean F. Mac Paddin; Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica; ed. Médica panamericana; Buenos Aires Argentina; cap. pruebas bioquímicas individuales; pp. 17 - 20, 23 - 38, 61 - 71.

21. J. H. Jorgensen, S.A. Crawford, and G.A. Alexander: rapid identification of group D Streptococci with the API 20S system; Journal of clinical microbiology, June 1983; Vol. 17 No. 5, p. 1096 - 1098.

22. Judith G. Reynolds, Ellen Silva, and William M. MC. Cormack; Association of Streptococcus bovis bacteremia with bowel disease Journal of clinical microbiology Apr. 1983 Vol. 17 No. 4 p. 696 - 697.

23. Kathryn L. Ruoff, Mary Jane Ferrano, Judith Holden, and Lawrence J. Kunz; Identification of Streptococcus bovis and Streptococcus salivarius in clinical laboratories; Journal of clinical Microbiology, Aug. 1984. Vol. 20. No. 2 p. 223 - 226.

24. Louis S. Goodman, Alfred Gilman; Bases Farmacológicas de la terapéutica; 5a. ed. Interamericana, México, D.F. 1978. cap.55, 56, 57, 58, 59. pp. 914 - 1007.

25. Manuel Fernandez Guerrero, Mark S. Rouse, Nancy K. Henry, Joseph E. Geraci and Walter R. Wilson; in vitro and in vivo activity of ciprofloxacin against enterococci isolated from patients with infective endocarditis; Antimicrobial agents and chemotherapy, Mar. 1987. Vol. 31. No. 3 p. 430 - 433.
26. M. Jane Kim, Martin Weiser, Sandra Gottschall, and Eileen L. Randall; Identification of Streptococcus faecalis and -- Streptococcus faecium and susceptibility studies with newly developed antimicrobial agents; Journal of clinical microbiology may. 1987. Vol. 25. No. 5 p. 787 - 790.
27. Philip E. Coudron, C. Glen Mayhall, Richard R. Packlam, Alice C. Spadora, V. Archer Lomb, Margaret R. Lybrand, and Harry P. Dalton; Streptococcus faecium out break in a neonatal intensive care unit; Journal of clinical microbiology, dec. 1984. Vol. 20 No. 6. p. 1044 - 1048.
28. Robert J. Fass and Charlotte A. Wright: comparative efficacies of mezlocillin and ampicillin alone or in combination with gentamicin in the treatment of Streptococcus faecalis endocarditis in rabbits; Antimicrobial agents and chemotherapy, Apr. 1984. Vol. 25 No. 4 p. 408 - 410.

29. Robert W. Tofto, Joarne Solliday, and Kent B. Crossley; Susceptibilities of enterococci to twelve antibiotics; antimicrobial agents and chemotherapy, Apr. 1984. Vol. 25. No. 4. p. 532 - 533.
30. R. R. Facklam, L. G. Thacker, B. Fox, and L. Enriquez; presumptive identification of streptococci with a new test system; journal of clinical microbiology, june. 1982. Vol. 15 No. 6. p. 987 - 990.
31. R. R. Facklam, J. F. Padula, E.C. Wortham, R. C. Cooksey, and H. A. Rountree; presumptive identification of group A, B and D Streptococci on agar plate media; Journal of clinical microbiology, june 1979 Vol. 9 No. 6 p. 665 - 672.
32. Shirley J. Vanzo and John A. Washington II; Evaluation of a rapid latex agglutination test for identification of group D Streptococci; Journal of clinical microbiology, sep. 1984. Vol. 20. No. 3 p. 575 - 576.
33. S. M. Hussain Qadri, D. J. Flournoy, and S. G. M. Qadri; sodium chloride - esculine hydrolysis test for rapid identification of Enterococci; Journal of clinical microbiology, june 1987. Vol. 25, No. 6. p. 1107 - 1108.

34. Steven H. Dougherty, David J. Henrges, Sharon W. Casey, and Wendy R. Thal; Impact of LY146032 on Streptococcus (enterococcus). faecalis translocation in mice antimicrobial agents and chemotherapy, mar. 1988. Vol. 32. No. 3, p. 337 - 340.

35. Thea Horodniceanu, Annie Buu - Hoi, Francoise Dolbos, and Gilda Bieth; High - Level Aminoglycoside resistance in group A, B, G, D (Streptococcus bovis) and viridans Streptococci; Antimicrobial agents and Chemotherapy, jan. 1982. Vol. 21. No.1 p. 176 - 179.