UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

MECANISMOS DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Streptococcus pyogenes*

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

GARCÍA RODRÍGUEZ THANIA

TUTORA: M.C. ISABEL MARTÍNEZ SANABRIA

ASESORA: M.C. ADRIANA PATRICIA RODRIGUEZ HERNÁNDEZ

MÉXICO, D.F. **2012**

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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 esta 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.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN…… 1

II. PROPÓSITO…….. 3

III. OBJETIVO…….. 4

IV. CONTENIDO POR CAPÍTULOS……... 5

1.*Streptococcus pyogenes*……..... 5

1.1.Generalidades…… 5

1.2.Inmunidad……..... 9

1.3.Patogenia…… 10

1.4.Mecanismos de resistencia de *Streptococcus pyogenes* a los antibióticos…….. 11

1.4.1.Genes de resistencia…… 16

1.4.1.1.Gen mef…… 16

1.4.1.2.Gen erm…… 16

1.4.2.Fenotipos y genotipos de cepas resistentes de *Streptococcus pyogenes*……... 17

1.5.Factores de virulencia……... 20

1.5.1.Toxinas…… 20

1.5.2.Enzimas……... 20

2.Enfermedades producidas por *Streptococcus pyogenes* 21

2.1.Faringitis……... 21

2.2.Escarlatina…… 23

2.3.Impétigo…… 24

2.4.Erisipela…… 24

2.5.Fascitis necrosante…… 25

2.6.Neumonía…… 26

2.7.Bacteremia…… 27

2.8.Síndrome del shock tóxico estreptocóccico…… 27

2.9.Fiebre reumática…….. 28

2.10.Glomerulonefritis aguda…….. 29

2.11.Diagnóstico y tratamiento de las infecciones producidas por *Streptococcus pyogenes*……... 32

2.11.1.Pruebas de laboratorio……. 32

2.11.2.Tratamiento…… 35

3.Métodos de laboratorio para determinar susceptibilidad a los antibióticos……..
3.1.Detección molecular de resistencia antimicrobiana……. 36
3.1.1.Introducción……. 36
3.1.2.PCR……... 37
3.2.Antibiogramas…….. 41
4.Impacto biopsicosocial de la resistencia a los antibióticos de *Streptococcus pyogenes*……... 47
4.1.Impacto Social……. 47
4.1.1.Uso indiscriminado de antibióticos…….. 50
4.2.Impacto Biológico…… 53
4.3.Impacto Psicológico…… 54
4.4.Impacto Médico…… 55
V. CONCLUSIONES……... 56
VI. REFERENCIAS…….. 59
VII. ANEXOS…….. 62
ANEXO 1.Esquema del manual de Determinantes Bacteriológicos Bergey´s para *Streptococcus pyogenes*…… 62

AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradezco a Dios por permitirme realizar éste proyecto que más que un proyecto es un sueño de vida, no fue un camino fácil, a lo largo de éste camino siempre me encomendé a él y me ha dado la fuerza y el carácter para no darme por vencida.

A mi familia:

***Mamá:** por darme la vida, apoyarme con palabras de aliento y por sentirse orgullosa de mí siempre, además de ser de mis primeros pacientes.*

***Papá:** por solventar los gastos económicos de toda mi carrera, sé que no fue fácil para ti, nunca me negaste la ayuda, también fuiste de mis primeros pacientes, por inculcarme la idea de ser independiente y pensar en grande.*

***Thalís:** por que más que una hermana eres mi mejor amiga, por decirme las palabras exactas que necesitaba en momentos difíciles, tanto académicos como personales, creo que fuiste la primera persona a la que atendí, te admiro, tu perseverancia es un ejemplo para mí.*

***José Luis:** hermano, por fomentarme el amor a la Universidad, por tus clases de inglés, por enseñarme que si se puede y no hay que dejarse derrotar.*

***Mauricio:** por crear en mi un panorama de vida, de metas personales, y hacerme ver que todo lo que quiera lo puedo lograr.*

Amigos:

Por hacerme más ameno el tiempo en clase y en las clínicas, por apoyarme en momentos de estrés.

Familia Mineros Ramírez:

(Sr. Alejandro, Sra. Araceli, Areli) Por brindarme su cariño, abrirme las puertas de su casa, hacerme sentir parte de ustedes, por alentarme y darme ánimos en éste sueño, así como por los consejos y tips en la práctica clínica.

Alejandro:

Por último y no por eso menos importante, mi amor, definitivamente sin ti no hubiera sido posible realizar todo esto, mil gracias por tanto y tanto amor, por darme la fuerza y las ganas de seguir adelante, por ayudarme en mis trabajos, por enseñarme como hacer las cosas más fácil, por estar siempre a mi lado, por ser el motor de mi vida, mi inspiración, te amo con todo mi corazón. ❤

A todos, muchísimas gracias, éste logro no solo es mío sino también de ustedes. Esto no termina aquí, es el comienzo.

Thania García Rodríguez.

I. INTRODUCCIÓN.

Streptococcus pyogenes, es una bacteria Gram positiva, con morfología de coco esférico, abarca un diámetro comprendido entre 1 y 2 µm, no motil, forma cadenas cortas en las muestras clínicas y cadenas de mayor longitud cuando crece en medios de cultivo. Su crecimiento óptimo es en agar sangre enriquecido, se inhibe cuando contiene una concentración elevada de glucosa, catalasa negativo β- hemolítico, grupo A de Lancefield.

Es uno de los patógenos humanos más importantes ya que se ha asociado con infecciones no invasivas, tales como faringitis aguda e infecciones invasivas, como celulitis, fascitis necrosante, bacteremia, y síndrome del shock tóxico estreptocóccico.

Granizo y col. mencionan que la primera descripción de resistencia a antibióticos de *S. pyogenes* fue a la eritromicina en 1955, varios informes han demostrado un aumento progresivo en la prevalencia de la resistencia a la eritromicina en todo el mundo; este incremento se ha atribuido al uso de macrólidos en la población. (Granizo 2000)

Los mecanismos de resistencia que ha desarrollado se atribuyen a la presencia de genes “mef” y “erm” los cuáles permiten que se desarrolle una bomba efflux en la cual disminuye la concentración del antibiótico intracelularmente, así como por una metilasa que media la modificación del sitio de unión ribosomal a los macrólidos.

Otro autor menciona, que esta especie sigue siendo muy sensible a la penicilina *in vitro*, y éste antibiótico es el fármaco de elección en el tratamiento de la mayoría de las infecciones estreptocóccicas debido a su amplio espectro, seguridad, y bajo costo, así como su eficacia en la

prevención de la fiebre reumática. (Del Grosso 2011). Para los pacientes alérgicos a la penicilina, la eritromicina y otros macrólidos se utilizan. Para los aquellos con graves infecciones de los tejidos blandos, clindamicina es el tratamiento preferido debido a su capacidad para inhibir la producción de factores de virulencia de estreptococos, incluyendo cápsula, la proteína M, y exotoxinas tales como la DNAsa y exotoxina pirogénica A (SPEA). Desde la década de 1990, la resistencia a los macrólidos se ha incrementado en todo el mundo.

En el 2004 se reportó una correlación entre el uso indiscriminado de antibióticos y el desarrollo de mecanismos de resistencia de *S. pyogenes* en infecciones, fenómeno corroborado en varios países. (Albrich 2004)

En los casos de resistencia a macrólidos y lincosamidas empeora el pronóstico de las infecciones, *S. pyogenes* produce diversas enfermedades infecciosas entre las que destaca la faringitis. Ésta enfermedad en nuestro país permanece dentro de las tres primeras causas de mortalidad de acuerdo con los datos de la Organización Mundial de la Salud, asimismo las enfermedades infecciosas ocupan un segundo lugar de mortalidad a nivel mundial. Dado que son éstos los antibióticos de elección, por esta razón la vigilancia en los mecanismos de resistencia de *S. pyogenes* es de gran importancia.

La problemática que conlleva afecta en un nivel biopsicosocial, con el desarrollo de infecciones mas fuertes e invasivas, afectando el estado psicológico del paciente haciendo que adquiera una actitud de desánimo y abandono al tratamiento farmacológico, además de repercutir en la economía del paciente así como limitaciones en la atención de la salud por parte del ámbito médico, ya que se agotan las opciones de tratamiento.

II. PROPÓSITO.

Streptococcus pyogenes es una bacteria Gram positiva que coloniza comensalmente vías aéreas y piel. Sin embargo, produce diversas enfermedades infecciosas, entre las cuales destacan: faringitis, escarlatina, impétigo, erisipela, fascitis necrosante, neumonía, bacteremia, Síndrome del shock tóxico estreptocóccico, fiebre reumática y glomerulonefritis aguda.

Particularmente la faringitis en nuestro país, es una de las enfermedades respiratorias que permanecen dentro de las tres primeras causas de mortalidad de acuerdo con los datos de la Organización Mundial de la Salud. Asimismo, las enfermedades infecciosas ocupan un segundo lugar de mortalidad a nivel mundial. Debido a esto y al alto consumo de antibióticos automedicados, se tiene como resultado, una alta prevalencia de cepas resistentes a antibióticos como la eritromicina, que han sido aisladas desde 1999 hasta el 2010, manteniéndose en 4.9% de prevalencia en la población mexicana. (Villaseñor 2012)

Por lo tanto, el propósito de este trabajo es identificar los mecanismos de resistencia bacteriana de *S. pyogenes,* como un problema de impacto biopsicosocial en nuestro país, ya que de acuerdo con una revisión de (Barriga 2008) las tendencias en el consumo de antibióticos en ocho países de América Latina, México ocupa el quinto lugar en el consumo de macrólidos, lincosamidas y estreptograminas en el periodo de 1997 al 2007.

Por esta razón, es importante conocer los mecanismos de resistencia a antibióticos que presenta *S. pyogenes* ya que ellos influyen directamente en la resolución de que prevalezcan infecciones por dicho microorganismo, dentro de las primeras causas de mortalidad en nuestro país.

III. OBJETIVO.

Presentar una revisión actualizada de los mecanismos de resistencia a antibióticos de *Streptococcus pyogenes* y asimismo mencionar el impacto de las complicaciones biológicas, sociales y psicológicas que conllevan a la alta prevalencia de infecciones por dicho microorganismo, como una problemática actual en nuestro país.

IV. CONTENIDO.

Capítulo 1. *Streptococcus pyogenes.*

1.1. Generalidades.

Es una bacteria Gram positiva, con morfología de coco esférico, abarca un diámetro comprendido entre 1 y 2 µm, no motil, forma cadenas cortas en las muestras clínicas y cadenas de mayor longitud cuando crecen en medios de cultivo (Figura 1, 2 y 3).

Su crecimiento óptimo es en agar sangre enriquecida, se inhibe cuando contiene una concentración elevada de glucosa, catalasa negativo β-hemolítico, grupo A de Lancefield. Figura 4. Anexo 1.Existe un manual en el cual se describen a detalle las características y ubicación.

El marco estructural básico de la pared celular es la capa de peptidoglucano, la cual, contiene una composición parecida a la de otras bacterias Gram positivas. En el interior de la pared celular se encuentran los antígenos específicos de grupo y de tipo (Figura 5).

El carbohidrato específico del grupo, el cual constituye el 10% del peso seco de la célula (antígeno del grupo A de Lancefield) (Figura 6). Es un dímero de N-acetilglucosamina y de ramosa. Este antígeno se usa para clasificar a los estreptococos. La proteína M es la principal proteína específica de tipo que se asocia a los estreptococos virulentos. Se compone de dos cadenas polipeptídicas que forman una hélice α. La proteína se ancla a la membrana citoplasmática, se extiende a través de la pared celular y sobresale por encima de la superficie celular. El extremo carboxilo está anclado en la membrana citoplasmática y la porción de la molécula incluida

en la pared celular está muy conservada en todos los estreptococos del grupo A. El extremo amino, que se extiende sobre la superficie celular, origina la variedad antígena observada entre los más de cien serotipos de proteínas M.

Las proteínas tipo M están codificadas por un complejo de más de 20 genes que componen la superfamilia de genes *emm.,* sobre el análisis de la secuencia de éstos se basa la clasificación epidemiológica.

Además de la proteína M, en la pared celular se localiza el ácido lipoteicoico y la proteína F. El ácido lipoteicoico y la proteína F facilitan la unión a las células del organismo anfitrión, al formar un complejo con la fibronectina que se encuentra presente en la superficie de las células del organismo anfitrión.

Algunas cepas de *S. pyogenes* forman una cápsula externa de ácido hialurónico, no se diferencia a nivel antígeno del ácido hialurónico presente en los tejidos conjuntivos de mamífero (Figura 7).

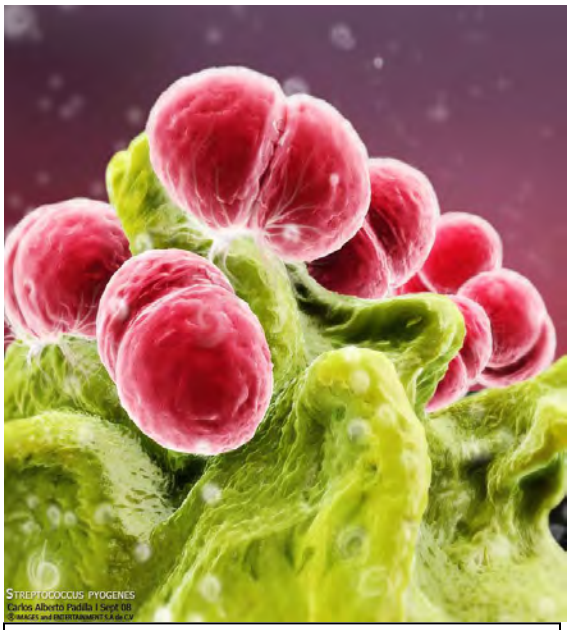


Figura 1. *Streptococcus pyogenes.* dermapixel.com

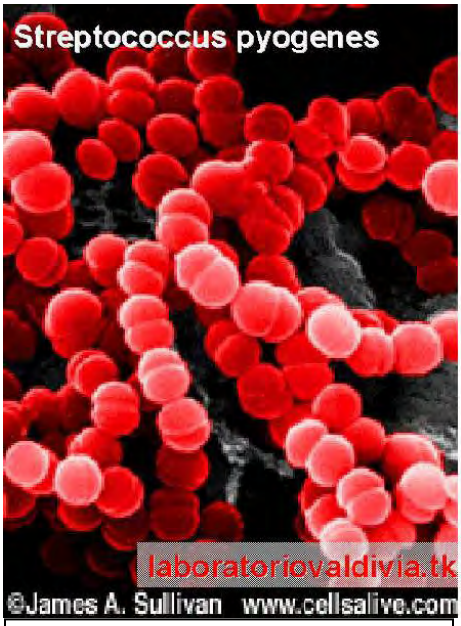


Figura 2. *Streptococcus pyogenes*. http://sitemaker.umich.edu/mc7/files/streptococcus_pyogenes.jpg

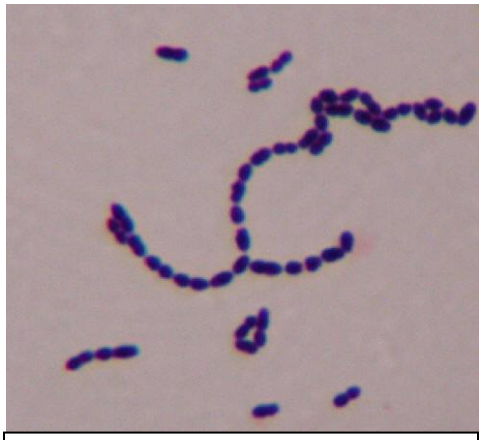


Figura 3. Tinción Gram positivo de *Streptococcus pyogenes*, por el Dr. William Schwanbioweb.uwlax.edu

Figura 4. Archivo: *Streptococcus pyogenes* agar sangre.jpg es.wikipedia.org

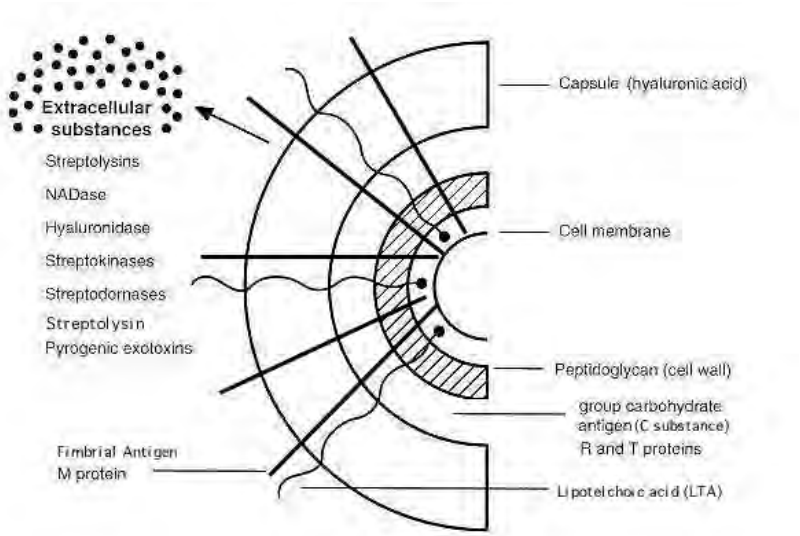


Figura 5. Estructura de la superficie celular de *Streptococcus pyogenes* y productos secretados. Textbookofbacteriology.net

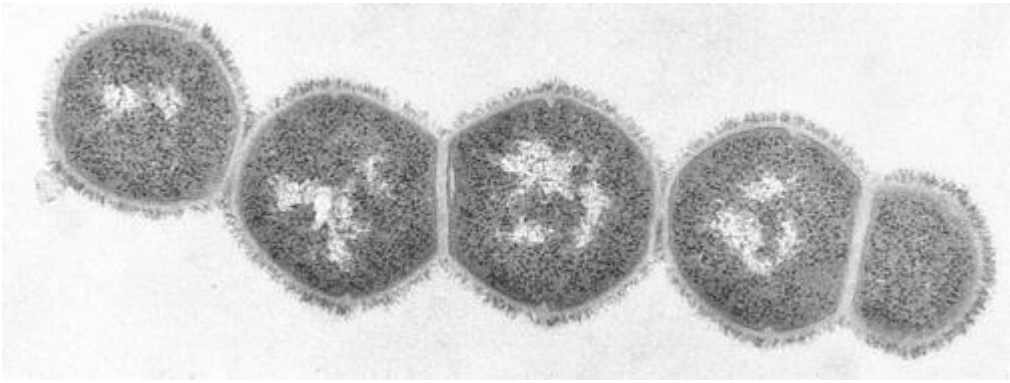


Figura 6. Microfotografía electrónica de *Streptococcus pyogenes* (estreptococos del grupo A) por María Fazio, textbookofbacteriology.net

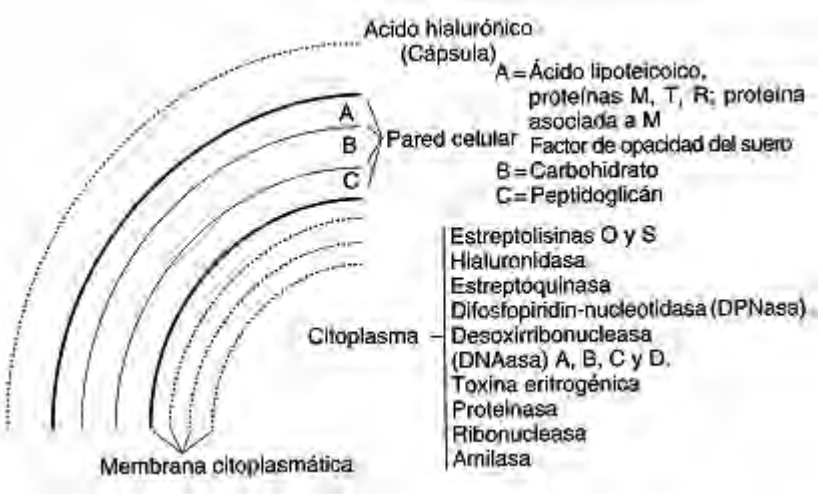


Figura 7. Esquema de la estructura de *S. pyogenes*. phttp://www.drscope.com/privados/pac/pediatria/pa5/agencaus.ht

1.2. Inmunidad.

La cápsula de ácido hialurónico es poco inmunogénica e interfiere con la fagocitosis. La región conservada de la proteína M se puede unir a una β-globulina sérica, el factor H, la cual constituye una proteína reguladora de la ruta alternativa del complemento.

El componente C3b del complemento, un importante mediador de la fagocitosis, se ve desestabilizado por el factor H. Por ello cuando C3b se une a la superficie celular en la región de la proteína M es degradado por el factor H, con lo que se evita la fagocitosis.

El efecto solo se ve superado cuando el paciente produce anticuerpos opsónicos específicos de tipo frente a la proteína M específica. La unión del fibrinógeno a la superficie de la proteína M inhibe también la activación del

complemento por la ruta alternativa y reduce la cantidad de C3b unido. Las proteínas tipo M interfieren en el proceso de fagocitosis.

Por último todas las cepas de *S. pyogenes* son capaces de producir una peptidasa de C5a, una serina proteasa que inactiva este componente. C5a es una molécula quimioatrayente de neutrófilos y fagocitos mononucleares; de este modo se inhibe la formación de abscesos hasta que el paciente logra neutralizar la peptidasa por medio de anticuerpos específicos.

Se ha demostrado que en la adherencia a las células del organismo anfitrión, median más de 10 antígenos bacterianos distintos, siendo los más importantes el ácido lipoteicoico, las proteínas M y la proteína F. La adherencia inicial es una interacción débil entre el ácido lipoteicoico y los sitios de unión de los ácidos grasos en la fibronectina y las células epiteliales.

La adherencia posterior implica a la proteína M, la proteína F y otras adhesinas que interaccionan con los receptores específicos de las células del organismo anfitrión.

1.3. Patogenia.

La virulencia de los estreptococos del grupo A está determinada por la capacidad de las bacterias de adherirse a la superficie de las células del organismo anfitrión (Figura 8), invadir las células epiteliales y producir una variedad de toxinas y de enzimas. *S. pyogenes* dispone además de otros mecanismos para evitar la opsonización y la fagocitosis, puede invadir las células epiteliales, se considera que esta internalización es importante tanto para el mantenimiento de las infecciones persistentes (por ejemplo faringitis estreptocócica recurrente) como para la invasión de los tejidos profundos.

La hidrofobicidad es un atributo importante de bacterias que contribuye a la adhesión y la formación de biopelículas. La hidrofobicidad de *Streptococcus pyogenes* se debe principalmente al ácido lipoteicoico (LTA) en la superficie estreptocócica pero el mecanismo por el cual LTA se retiene en la superficie es difícil de entender. (Harry 2009)

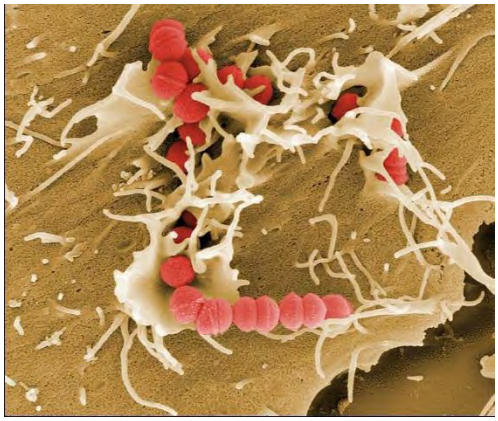


Figura 8. La invasión de estreptococos del grupo A (*Streptococcus pyogenes*, rojo) en la célula epitelial humano (marrón) mediante un proceso llamado "membrana fruncido" .DSM982 Géminis, 5 kV, Inlens:.. Everhart 50:50 Cortesía del Prof. Dr. Rohde, HZI Braunschweig www.helmholtz-hzi.de/en

1.4. Mecanismos de resistencia de *Streptococcus pyogenes* a los antibióticos

*Resistencia bacteriana.

Muchas especies de bacterias se conoce que han desarrollado medios de defensa contra antibióticos, y tales habilidades se han manifestado como mecanismos de resistencia. Una cepa resistente se define como aquella que es capaz de multiplicarse en presencia de concentraciones mayores que las alcanzadas con dosis terapéuticas (Figura 9).

La evolución en el desarrollo de antibióticos ha sido un proceso relativamente sencillo y fácil de comprender comparado con los sistemas

complejos que poseen las bacterias para desalojarlos de su interior. (Piddock 2006, Putman 2000), (Figura 10).

Varios factores influyen en el surgimiento de cepas resistentes, pero la presión selectiva ejercida por el uso indiscriminado de antibióticos es uno de los más importantes. Se ha reportado una correlación entre el consumo de antibióticos y resistencia de *S. pyogenes* en infecciones, fenómeno corroborado en varios países. (Albrich 2004). En los casos de resistencia a macrólidos y lincosamidas empeora el pronóstico de las infecciones, dado que son estos los antibióticos de elección y por esta razón la vigilancia de la resistencia en *S. pyogenes* es de gran importancia.

El antibiótico de primera elección para el tratamiento de infecciones por *S. pyogenes* es la penicilina, indicándose los macrólidos y lincosamidas en los pacientes alérgicos a antibióticos ß-lactámicos. Adicionalmente, en infecciones invasoras se administra clindamicina pues la monoterapia con penicilina no es absolutamente eficaz. (Mandell 2005)

Las cepas de *S. pyogenes* Grupo A de Lancefield mantienen sensibilidad total a la penicilina. En cambio la eficacia de macrólidos y azálidos (azitromicina, claritromicina) se ve perjudicada por los mecanismos de resistencia a macrólidos, lincosamidas, estreptogramina tipo b, con un fenotipo MLSB constitutivo o inducible y por eflujo, lo que dificulta su uso empírico. (Casellas 2011)

El mecanismo de resistencia que presenta *S. pyogenes* hacia los macrólidos específicamente hacia la eritromicina es mediado por la alteración de la entrada de la droga “Efflux”. (Del Grosso 2011). Las cepas que lo adquieren son resistentes solamente a macrólidos y poseen el fenotipo M. (Weisblum 1995, Seppala 1998, Weisblum 1995, Clancy 1996)

Éste mecanismo consiste en la adquisición de un gen llamado “mef” que codifica para una bomba de expulsión que transporta los macrólidos fuera de la célula bacteriana. Es importante ya que logra evitar que el antibiótico se incorpore a la célula bacteriana y lo exporte activamente al medio extracelular, sin permitir el alcance de la molécula blanco por el fármaco (alteración en la entrada de la droga efflux).

En las bacterias, los genes que codifican las bombas efflux se localizan en el cromosoma o los plásmidos. Existen cinco superfamilias de proteínas en la bomba de excresiòn:

1) Familia de casete de unión al ATP (ABC, por sus siglas en inglés, ATP binding cassette).
2) Superfamilia del facilitador mayor (MFS, major facilitator superfamily).
3) Familia de extrusión de multifármacos y tóxicos (MATE, multidrug and toxic-compound extrusion).
4) Familia de resistencia pequeña a multifármacos (SMR, small multidrug resistance).
5) Familia de resistencia a división por nodulación (RND, resistance nodulation division). (Becerra 2009).

La resistencia a los antimicrobianos individuales o múltiples mediada por la Bomba de “efflux” no sólo ha causado serias preocupaciones, también tiene restringido las opciones de tratamiento contra las infecciones bacterianas.

Las bombas de “efflux” reducen la acumulación de antibióticos en el interior de las células bacterianas, y da lugar a una fase lenta en la que el proceso de flujo de salida de los antibióticos, proporciona tiempo suficiente

para que la bacteria se adapte a los antibióticos y se vuelva resistente a través de mutaciones o alteraciones de blancos de antibióticos. (Li 2009)

Además presenta otro mecanismo de resistencia en el cual se inhibe la síntesis proteica específicamente en el RNAr en la subunidad 23S.

S. pyogenes adquirió resistencia a estos antibióticos por la adquisición de un gen que codifica una metilasa en el RNAr bloqueando la unión del antibiótico. *S. pyogenes* posee la metilasa por el gen "ermB" la cual confiere resistencia constitutiva ante macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B, con el fenotipo MLSB. (Rodríguez 2011)

También puede poseer la metilasa codificada por el gen "ermA". Las cepas portadoras de esta metilasa poseen resistencia constitutiva e inducible a eritromicina y lincosamidas.

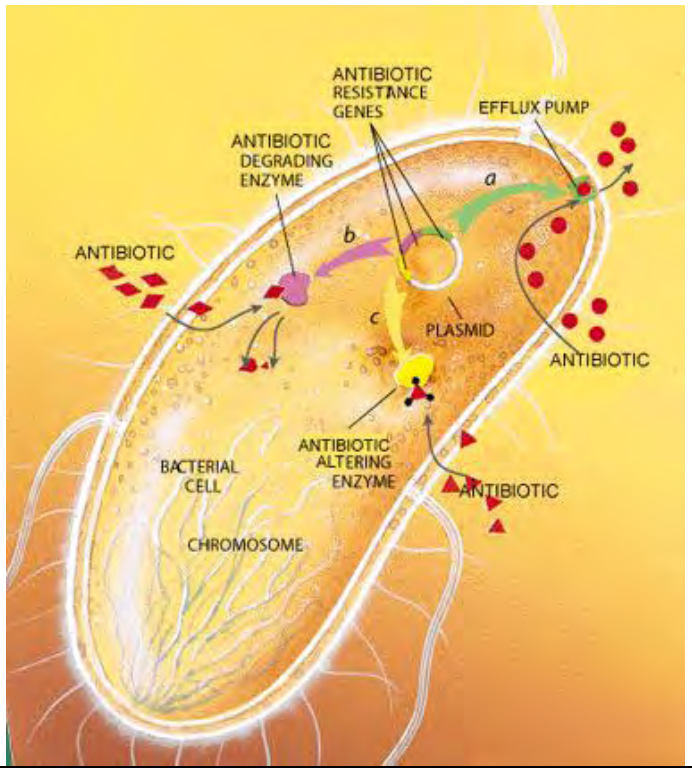


Figura 9. Esquema de resistencia bacteriana. http://mvc.bioweb.dcccd.edu/weblinks/0398levybox2.html

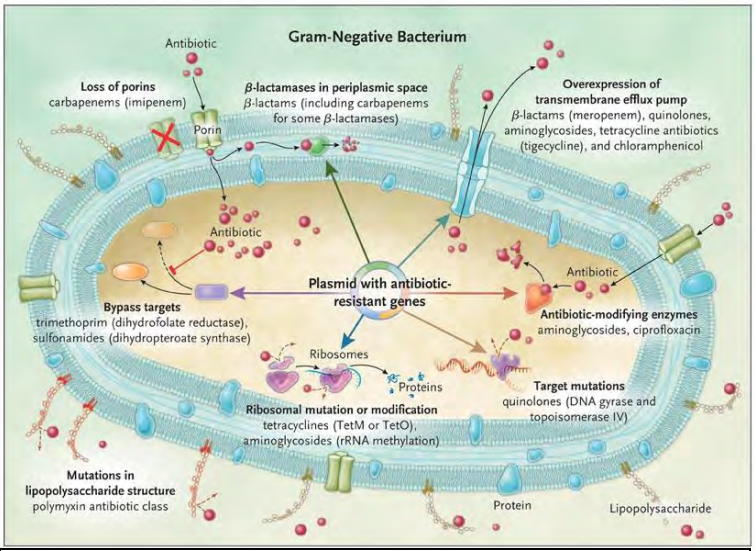


Figura 10. Esquema mecanismos de resistencia bacteriana. www. lacienciaysusdemonios.com

1.4.1. Genes de resistencia.

1.4.1.1. Gen mef.

El gen “mef”, es representado principalmente por la subclase A, “mef (A)”, aunque una pequeña parte de las cepas también puede llevar diferentes subclases “mef”.

El mecanismo de salida consiste en una bomba codificada por los genes mef (A) y mef (E), y una proteína de casete de unión a ATP, lo que reduce la concentración de antibiótico intracelular a niveles subtóxicos, se asocia con el fenotipo M. (Zhong 2000).

En *S. pyogenes*, las subclases mef diferentes de mef (A) están asociados específicamente con genes de resistencia de otros estreptococos y están encerrados en compuestos de elementos genéticos similares a los ya identificados por *S. pyogenes*. Es bastante sorprendente que los genes muy similares están asociados con diferentes elementos genéticos, de tal forma específica. Esto sugiere un origen diferente y o una ruta evolutiva diferente para las subclases mef.

Es importante distinguir entre las subclases mef así como sobre la base del elemento genético que los contiene.

1.4.1.2. Gen erm.

En *Streptococcus pyogenes*, la resistencia inducible a eritromicina es debido a la metilación postranscripcional de un residuo de adenina en el RNAr subunidad 23S. (Brenciani 2011). Principalmente por el gen erm subclase B, “ermB”.

El mecanismo de resistencia a los macrólidos se da por una metilasa que media la modificación del sitio de unión ribosomal a los macrólidos y está codificada por los genes erm. Ésta metilasa se encuentra situada en transposones conjugativos tales como Tn1545 y TN2010.

Otros mecanismos incluyen mutaciones en el dominio V del RNAr subunidad 23S, así como modificaciones de las proteínas ribosomales L4 y L22, que están situados en la proximidad inmediata del sitio de unión a macrólidos. El fenotipo de resistencia adquirida por los microorganismos se define como proteína M. (Seppala 2009). Algunos elementos son transferibles por conjugación. (Varaldo 2009)

1.4.2. Fenotipos y genotipos de cepas resistentes de *S. pyogenes*.

En México se estudiaron cepas de *S. pyogenes*, las cuales fueron identificadas por morfología de las colonias, y presencia de β-hemólisis, con siembra en agar al 5% enriquecido con sangre de oveja al 5%. (Seppala 1993). Se realizaron pruebas de susceptibilidad ante antimicrobianos.

Todas las cepas resistentes a la eritromicina se cribaron para la presencia de genes relacionados con la resistencia, los productos de amplificación se realizaron en geles de agarosa.

Las cepas de *S. pyogenes* fueron de seis estados (Jalisco, Durango, Aguascalientes, Morelos, Colima y Nuevo León), se aislaron durante el período 1999-2009 a partir de pacientes con edades comprendidas entre los 1 y 82 años (media de 8 años). Los sitios de aislamiento fueron de pacientes con faringitis aguda, y de otros sitios normalmente estériles.

Los fenotipos de las cepas resistentes a eritromicina identificados en México fueron de proteína M (vinculado a mefA) 95%, así como del fenotipo CMLS (vinculado a ermB) 5%.

Los genes detectados en cepas resistentes a la eritromicina de México fueron mefA (95%) y ermB (5%). En México, todas las cepas resistentes a eritromicina pertenecían al grupo no invasivo, es decir a paciente con faringitis persistentes.

Desde la primera descripción de resistencia a la eritromicina en 1955, varios informes han demostrado un aumento progresivo en la prevalencia de la resistencia a la eritromicina en todo el mundo; este incremento se ha atribuido al uso de la eritromicina y otros macrólidos en la población. (Granizo 2000, Gagliotti 2006, Malhotra 2007)

De acuerdo con una revisión de las tendencias en el consumo de antibióticos en ocho países de América Latina, México ocupa el quinto lugar en el consumo de macrólidos, lincosamidas y estreptograminas durante 1997-2007. La prevalencia de las cepas resistentes a eritromicina aisladas desde 1999 hasta 2010 se ha mantenido en 4,9%. (Green 2006)

En los fenotipos de las cepas aisladas de *S. pyogenes* de México, el fenotipo M fue predominante con el 95%. Se mostró que el gen mefA (asociado con el fenotipo M) el más frecuentemente asociado con las cepas resistentes a eritromicina aisladas de pacientes con infecciones no invasivas. (Villaseñor 2012), (Figura 11 y 12)

	México	*USA*
Total of GAS strains	467	174
Period of isolates	1999–2009	1999–2010
Patients age range (years)	1–82 (median 8 years)	5–91 (median 41 years)
Invasive	89/467 (19%)	148/174 (85%)
Erythromycin resistance	23/467 (4.9%)	9/174 (5.2%)
Phenotypes	M (95%); cMLS (5%)	iMLS (33.3%); iMLS-D (33.3%); M (33.3%)
Erythromycin resistance-related genes	*mef*A (95%); *erm*B (5%)	*erm*TR (56%); *mef*A (33%); none (11%)

Figura 11.Demografía y características generales de cepas de *S. pyogenes* estudiadas de pacientes con infecciones invasivas y no invasivas en México y USA. (Villaseñor 2012)

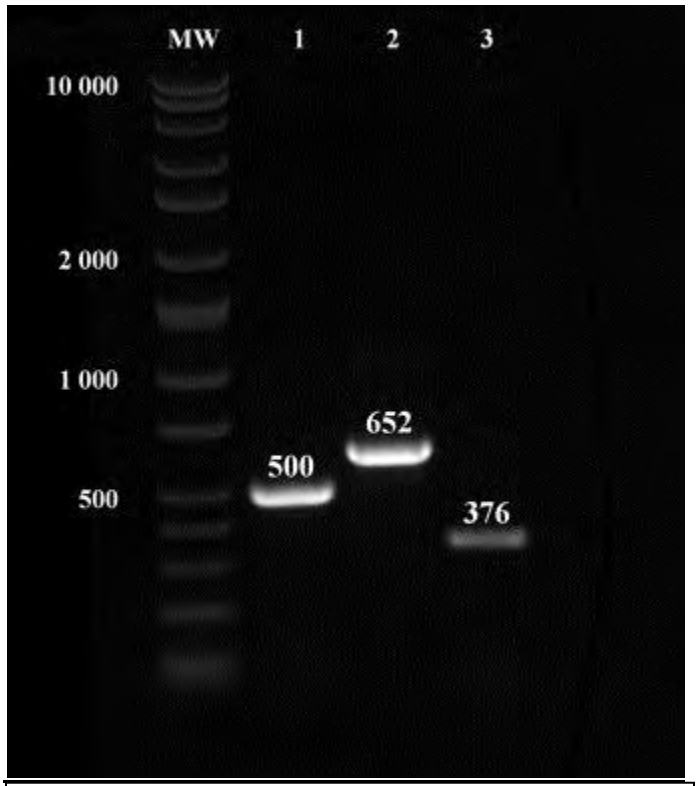


Figura 12. Análisis de pruebas de PCR en cepas resistentes a la eritromicina usando primers específicos para la detección de mefA (linea1), ermB (línea 2). (Villaseñor 2012)

1.5. Factores de virulencia.

1.5.1. Toxinas.

Exotoxinas pirógenas estreptocócicas (Spe) .Conocidas inicialmente como toxinas eritrogénicas, son fabricadas por las cepas lisogénicas de los estreptococos. Se han descrito 4 toxinas termolábiles inmunológicamente distintas (Spe A, Spe B, Spe C, Spe F), estas toxinas actúan como superantígenos e interaccionan tanto con macrófagos como con los linfocitos T cooperadores con un aumento en la liberación de citocinas proinflamatorias. Se cree que esta familia de exotoxinas es responsable de muchas de las manifestaciones clínicas de las enfermedades graves por estreptococos, incluida la fascitis necrosante y el síndrome del shock tóxico estreptocócico, además del exantema observado en pacientes con escarlatina.

1.5.2. Enzimas.

Estreptolisina S es una hemolisina estable en presencia de oxígeno, no inmunogénica y ligada a la célula que puede lisar eritrocitos, leucocitos y plaquetas. La estreptolisina S puede estimular también la liberación de los contenidos lisosómicos después de ser englobada por este orgánulo y provoca la subsiguiente destrucción de la célula fagocítica. La estreptolisina S se produce en presencia del suero (la s indica soluble en suero) y es responsable de la β- hemólisis característica que se observa en el medio de agar sangre.

Estreptolisina O es una hemolisina lábil al oxígeno capaz de lisar los eritrocitos, leucocitos plaquetas y células en cultivo. Se forman anticuerpos con facilidad frente a la estreptolisina O (ASO), una característica que los

distingue de la estreptolisina S, y sirven para demostrar una infección reciente por estreptococos del grupo A (prueba anti -ASO). La estreptolisina O se inhibe de forma irreversible por colesterol de los lípidos cutáneos, de manera que los pacientes con éstas infecciones no desarrollan anticuerpos frente a ASO.

Estreptocinasa ó fibrolisina (A y B). Estas enzimas intervienen en la degradación del plasminógeno, con la consiguiente liberación de la proteína plasmina, que a su vez se encarga de la degradación de la fibrina y el fibrinógeno con la lisis de los coágulos y depósitos de fibrina. Por tanto estas enzimas pueden lisar los coágulos de sangre y los depósitos de fibrina y facilitar la rápida diseminación de *S. pyogenes* por los tejidos infectados. Los anticuerpos frente a estas enzimas (anticuerpos frente a estreptocinasa) son un marcador útil de infección.

Desoxirribonucleasas (DNAasas A-D). Estas enzimas no son citolíticas pero pueden despolimerizar el ácido desoxirribonucleico existente en el pus (DNA). Este proceso reduce la viscosidad del material del absceso y facilita la diseminación de los microorganismos. Los anticuerpos desarrollados frente a la DNAasa B son un marcador importante de las infecciones (prueba anti DNAasa B), sobre todo en pacientes con infecciones cutáneas porque no elaboran anticuerpos frente a la estreptolisina O.

El componente C5a del complemento media en la inflamación reclutanto y activando las células fagocíticas. La C5a peptidasa interrumpe este proceso porque degrada el C5a. Se han descrito otras enzimas, incluida la hialuronidasa y la difosforidina nucleotidasa. (Murray 2009)

Capítulo 2. Enfermedades producidas por *S. pyogenes.*

2.1. Faringitis.

La faringitis bacteriana aguda es causada de manera típica, por *S. pyogenes,* que abarca en promedio 5 a 15% de todos los casos de faringitis aguda en adultos; las cifras varían con la estación del año (Figura 13).

Los signos y síntomas que acompañan a la faringitis aguda no son elementos fiables para entrever cuál es el agente causal; sin embargo el cuadro causal puede sugerir mayor probabilidad de una causa que la otra.

Los signos clínicos de faringitis aguda por *S. pyogenes* van desde un cuadro relativamente benigno o leve son muchos de los síntomas recurrentes, hasta un trastorno clínicamente grave con dolor faríngeo profundo, fiebre escalofríos y dolor abdominal. Por lo común se detecta hiperemia de la membrana faríngea con hipertrofia amigdalina y exudado, junto con dolor a la palpación de los ganglios cervicales anteriores. Por lo regular no se advierten las manifestaciones como la tos y en caso de haberla, sugieren que un virus es un agente patógeno.

La complicación más conocida es la fiebre reumática, pero sigue siendo pequeño el riesgo de que surja después de una infección aguda. Otras complicaciones sugieren glomerulonefritis aguda e innumerables cuadros supurados como absceso periamigdalino, otitis media, mastoiditis, sinusitis, bacteremia y neumonía, cuadros que presentan frecuencias muy bajas. Con la antibioticoterapia se evita la aparición de fiebre reumática; sin embargo no hay pruebas de que se evite glomerulonefritis aguda. Algunos datos respaldan el uso de antibióticos para impedir el absceso periamigdalino. Los abscesos por lo común conllevan dolor faríngeo intenso,

disfagia, fiebre y deshidratación, a menudo con desplazamiento medial de la amígdala en la exploración.

2.2. Escarlatina.

La escarlatina es a menudo una faringitis, acompañada de un exantema característico. El exantema aparece por los efectos de una de las tres toxinas denominadas en la actualidad exotoxinas pirógenas estreptocócicas A, B y C, que antiguamente recibían el nombre de toxinas eritrógenas o de la escarlatina. En el pasado se creía que la escarlatina reflejaba la infección de una persona que carecía de inmunidad específica. Hay estudios que dicen que la aparición de la escarlatina refleja una reacción de hipersensibilidad tras una exposición previa a la toxina (Figura 14).

Los síntomas de la escarlatina son los de la faringitis sola. El exantema aparece de ordinario el primer o segundo día de la enfermedad en la parte superior del tronco y se extiende hasta las extremidades, aunque respetando las palmas de las manos y las plantas de los pies. El exantema está formado por pápulas minúsculas que confieren a la piel un tacto característico de “papel de lija”.

Los signos asociados consisten en palidez peribucal, “lengua en frambuesa” (aumento de tamaño de las papilas en una lengua cubierta que más tarde se descarna) y acentuación del exantema en los pliegues cutáneos. El exantema remite en seis a nueve días y algún tiempo después las palmas y las plantas se descaman.

2.3. Impétigo (piodermia).

El impétigo es una infección superficial de la piel, afecta sobre todo a niños pequeños, suele producirse durante los meses cálidos y es más común en los países semitropicales ó tropicales que en las regiones más frías. La infección es más frecuente en los niños que viven rodeados de falta de higiene. En los estudios prospectivos se ha comprobado que la colonización de la piel intacta por *S. pyogenes* precede a la infección clínica. Un traumatismo leve, como un arañazo o la picadura de un insecto, basta para inocular los microorganismos en la piel. Por consiguiente, la mejor forma de evitar el impétigo consiste en mantener una higiene adecuada (Figura 15).

Las zonas que suelen resultar afectadas son la cara (particularmente alrededor de la nariz y de la boca), y las extremidades inferiores, aunque también se detectan lesiones en otras partes del cuerpo. Cada lesión comienza como un grupo de pápulas rojas que pronto se convierten en vesículas y pústulas que se rompen y se funden formando las características costras con forma de panal. De ordinario, las lesiones son indoloras y los pacientes no parecen enfermos.

La fiebre no es una de las características del impétigo y, si aparece, indica que la infección se ha extendido a los tejidos profundos o un diagnóstico alternativo.

2.4. Erisipela.

Es una de las formas de celulitis se caracteriza por la tonalidad rojo oscura de la piel afectada, que forma una meseta, claramente limitada por la piel normal circundante. La lesión es cálida al tacto, a veces resulta dolorosa con la palpación y presenta una apariencia brillante y tumefacto (Figura 16).

La piel tiene a menudo una textura de piel de naranja que se atribuye a la afección de vasos linfáticos superficiales. A veces se forman vesículas o ampollas superficiales, de ordinario tras dos o tres días. Por lo general la lesión aparece en algunas horas y se vincula con fiebre y escalofríos.

La erisipela suele afectar a determinadas regiones. La zona malar del rostro (que a menudo se extiende sobre el puente de la nariz, o a la región malar contralateral) y las extremidades inferiores. La inoculación de microorganismos en la piel ocasiona una infección en la piel y los tejidos subcutáneos, llamada también celulitis. La vía de acceso puede ser una herida traumática o quirúrgica, la picadura de un insecto o cualquier otra herida cutánea. La vía de acceso casi nunca resulta evidente.

Suele aparecer en las regiones que han sufrido una alteración del drenaje linfático normal: lugares afectados por un episodio previo de celulitis, el brazo homolateral a una mastectomía y a la disección del ganglio linfático axilar, una extremidad inferior que haya sufrido venosis trombosa profunda o linfoedema crónico o tras la extracción de la vena safena. El microorganismo puede penetrar por una rotura de la barrera dérmica situada a cierta distancia del punto en el que aparecerá la celulitis clínica.

Estas infecciones de heridas suelen incluir un exudado ligero y se propagan con rapidez, en forma de celulitis de la piel y los tejidos subcutáneos o como una infección de los tejidos más profundos.

2.5. Fascitis necrosante.

Denominada también gangrena, se define como una infección de las fascias superficiales o profundas que recubren los músculos de una extremidad del cuerpo. La fuente de la infección puede ser la piel (los

microorganismos se introducen en el tejido debido a un traumatismo) o la microflora intestinal; en este caso, los patógenos se liberan durante una intervención quirúrgica abdominal o a partir de una fuente intestinal oculta, como un absceso del apéndice (Figura 17).

El lugar de la inoculación, puede no ser evidente y, a menudo, se encuentra a cierta distancia del punto de afección clínica; la introducción de microbios a través de un traumatismo leve de la mano puede asociarse con la infección clínica de los tejidos que recubren el hombro y el tórax.

En general, *S. pyogenes* participa en casi 60 % de los casos de fascitis necrosante; el inicio de los síntomas suele ser bastante aguda y está caracterizado con dolor intenso, malestar general, fiebre, escalofríos y postración general, a medida que avanza la infección (a menudo en cuestión de horas).

La magnitud de los síntomas se agravan, las lesiones secundarias se tornan más evidentes y aparece un eritema oscuro o moteado y edema., el notable dolor con la palpación de la zona afectada evoluciona hasta la anestesia y la propagación del proceso inflamatorio produce el infarto de los nervios cutáneos.

2.6. Neumonía.

En ocasiones *S. pyogenes* provoca neumonía, por lo general de personas previamente sanas. Los síntomas aparecen de forma súbita o gradual y suelen consistir en dolor precordial pleurítico, fiebre, escalofríos y disnea.

Casi siempre se observa tos aunque no suele ser un rasgo destacado, alrededor del 50% de los pacientes sufren un derrame pleural asociado, al principio de la enfermedad se detecta en la radiografía de tórax la presencia de liquido del cuyo tamaño aumenta rápidamente.

Estas acumulaciones pleurales deben drenarse ya que tienden a enclaustrarse pronto, lo que se traduce en una reacción fibrótica crónica que debe eliminarse mediante toracotomía (Figura 18).

2.7. Bacteremia.

La bacteremia por *S. pyogenes* se vincula a menudo con una infección local identificable: aparece de forma excepcional con faringitis no complicada en ocasiones con celulitis o neumonía, con relativa frecuencia, con fascitis necrosante. La bacteremia sin una fuente identificada eleva la probabilidad de endocarditis, un absceso oculto u osteomielitis (Figura 19).

2.8. Síndrome del shock tóxico estreptocóccico.

Aunque la incidencia de enfermedad grave por *S. pyogenes* ha disminuido, la tendencia se modifico mucho a finales de los años 80 cuando se describieron infecciones con toxicidad multisistémica. Los pacientes afectados por este síndrome, presentaban al principio una inflamación de tejidos blandos en el lugar de la infección y síntomas inespecíficos como fiebre, escalofríos, malestar general, nauseas, vómitos y diarrea (Figura 20).

El dolor se intensifica según la enfermedad progresa hasta provocar shock e insuficiencia multiorgánica (por ejemplo riñón, pulmones, hígado y corazón), los pacientes con enfermedades estreptocócicas sufren bacteremia y la mayoría tiene fascitis necrosante.

Aunque los sujetos de cualquier edad son susceptibles a padecer el síndrome del shock tóxico estreptocócico, los pacientes con ciertas entidades presentan un riesgo más elevado, como aquellos con infección por VIH, cáncer, diabetes, enfermedad pulmonar cardiaca, infección por el virus de la varicela zóster, así como los adictos a drogas por vía parenteral y los alcohólicos.

Las cepas de *S. pyogenes* responsables de este síndrome son diferentes de las cepas que producen faringitis, ya que la mayoría de las primeras corresponde a los serotipos N1 ó 3 y muchas de ellas se rodean de prominentes cápsulas mucopolisacáridas de ácido hialurónico (cepas mucoides).

2.9. Fiebre reumática.

La fiebre reumática es una complicación no supurativa de la enfermedad asociada a *S. pyogenes*. Se caracteriza por la aparición de alteraciones inflamatorias que afectan al corazón, a las articulaciones, los vasos sanguíneos y los tejidos subcutáneos. La afectación cardiaca se manifiesta con una pancarditis (endocarditis, pericarditis, miocarditis) y se asocia a menudo a la presencia de nódulos subcutáneos. Puede producir una lesión crónica y progresiva de las válvulas cardiacas. Las manifestaciones articulares pueden abarcar desde artralgias hasta una artritis manifiesta con alteración de numerosas articulaciones con un patrón migratorio (es decir, la afectación pasa de una articulación a otra) (Figura 21).

La fiebre reumática se asocia a la faringitis estreptocócica, pero no a las infecciones cutáneas estreptocócicas. Como cabria esperar las características epidemiológicas de esta entidad remedian a las de la faringitis estreptocócica. Es más frecuente en escolares de corta edad, sin

predilección por el sexo y se registra principalmente durante el otoño y el invierno. Aunque esta enfermedad afecta con mayor frecuencia a pacientes con faringitis estreptocócicas graves hasta un tercio de estos presenta una infección leve o asintomática.

Las cepas reumatógenas inducen una enérgica respuesta de anticuerpos de todos los pacientes con faringitis. La fiebre reumática puede recurrir debido a infecciones estreptocócicas posteriores en ausencia de profilaxis antibiótica. El riesgo de recidiva disminuye con el tiempo.

Debido a que no hay una prueba diagnóstica específica para identificar a los pacientes con fiebre reumática, el diagnostico se hace sobre la base de los hallazgos clínicos y la evidencia documentada de una infección reciente por *S. pyogenes* como son:

-Los resultados de los cultivos
-La detección del antígeno de grupo A
-Una elevación de los cuerpos anti-ASO anti-DNAasa B ó anti-hialuronidasa

La ausencia de un titulo de anticuerpos elevado o en ascenso debería ser una importante evidencia en contra del diagnostico de fiebre reumática.

2.10. Glomerulonefritis aguda.

La segunda complicación no supurativa de la enfermedad estreptocócica es la glomerulonefritis aguda, la cual se caracteriza por una inflamación aguda de los glomérulos renales, hipertensión, hematuria y proteinuria.

A diferencia de la fiebre reumática la glomerulonefritis aguda es una secuela de las infecciones estreptocócicas piodérmicas y faríngeas; sin embargo, los serotipos N nefrogénicos son distintos en las dos enfermedades primarias. Las características epidemiológicas son semejantes a las de la infección estreptocócica inicial. El diagnostico se basa en las manifestaciones clínicas y el hallazgo de una infección reciente (Figura 22).

Los pacientes jóvenes acostumbran a disfrutar de una recuperación sin complicaciones, pero en los adultos no se ha definido adecuadamente el pronóstico a largo plazo. En este grupo de pacientes se han observado perdidas progresivas e irreversibles de la función renal. (Harrison 2009)

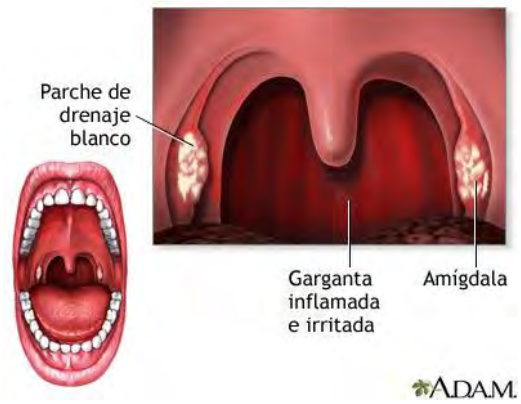


Figura 13. Faringitis.
www.umm.edu

Figura 14. Escarlatina.
cuidatusaludcondiane.com

Figura 15. Impétigo.
iqb.es

Figura 16. Erisipela.
umm.edu

Figura 17. Fascitis necrosante.
artroimagen.com

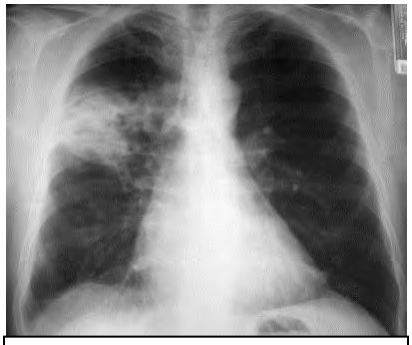


Figura 18. Neumonía.
mbeneumologia.org

Figura 19. Bacteremia.
http://www.noticiassalud.com/5183/bacteriemia.html

Figura 20. Síndrome de shock tóxico estreptocóccico.
pediatroblastos.com

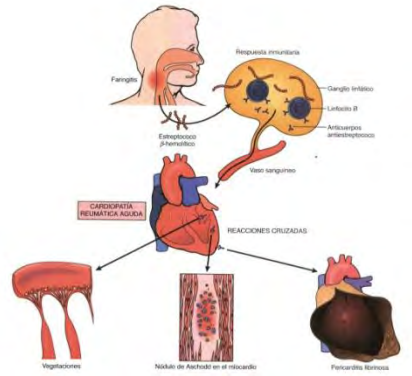


Figura 21. Fiebre reumática. lookfordiagnosis.com

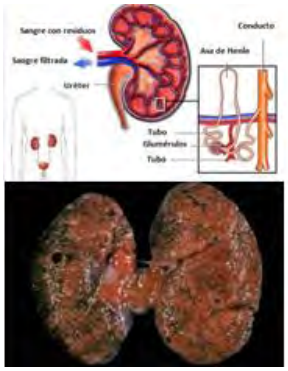


Figura 22. Glomerulonefritis aguda. http://www.noticiassalud.com/5242/5242.html

2.11. Diagnóstico y tratamiento de las infecciones producidas por *S. pyogenes.*

2.11.1. Pruebas de laboratorio.

*Microscopía.

La tinción de Gram de las muestras de los tejidos afectados se puede utilizar con el fin de elaborar un diagnóstico rápido y preliminar de la infección del tejido blando o del piodermia producido por *S. pyogenes.* La detección de cocos Gram positivos agrupados en parejas o en cadenas asociados a leucocitos es relevante debido a que los estreptococos no suelen colonizar la superficie cutánea.

Por el contrario los estreptococos forman parte de la microflora bucofaríngea normal, por lo que su presencia en una muestra respiratoria de un paciente aquejado de faringitis tiene escaso valor pronóstico.

*Detección de antígenos.

Se pueden emplear muchas pruebas inmunológicas que utilizan anticuerpos que reaccionan con los carbohidratos específicos de grupo de la pared de la célula bacteriana para identificar los estreptococos del grupo A en frotis de faringe de manera directa. Se trata de pruebas rápidas, económicas y específicas, pero su sensibilidad es baja (posiblemente no superior al 90%). Todos los resultados negativos se deben confirmar con un cultivo de faringe. Las pruebas de antígenos no se emplean en enfermedades cutáneas o no supurativas.

*Pruebas basadas en los ácidos nucléicos.

Consiste en una prueba con sonda de ácidos nucléicos y otra de amplificación de los mismos comercializados para detectar *S. pyogenes* en las muestras de faringe. Aunque la sensibilidad de la prueba con sonda equivale a los estudios inmunológicos y resulta menos sensible que el cultivo, la prueba de amplificación tiene la misma sensibilidad que este y no se necesitan pruebas de confirmación cuando el resultado es negativo.

*Cultivo.

Se deben tomar muestras de la bucofaríngе posterior (por ejemplo las amígdalas) a pesar de la dificultad que implica la obtención de exudados faríngeos en la población pediátrica. La densidad bacteriana es menor en las zonas anteriores de la boca y la cavidad bucal (particularmente la saliva) se encuentra colonizada por bacterias que inhiben el crecimiento de *S. pyogenes.*

Por tanto la contaminación de una muestra bien recogida puede enmascarar o inhibir el crecimiento. El aislamiento de *S. pyogenes* en las infecciones cutáneas no entraña ninguna dificultad.

Se levanta la costra y se cultivan el material purulento y la base de la lesión. Las muestras para cultivo no se deben obtener a partir de pústulas cutáneas abiertas en fase de drenaje, ya que podrían presentar una sobreinfección. Estos microorganismos se recuperan con facilidad a partir de cultivos tisulares y hemocultivos procedentes de pacientes aquejados de erisipela o celulitis puede existir un número relativamente bajo de bacterias. Los estreptococos son exigentes desde el punto de vista nutricional.

*Identificación.

Los estreptococos del grupo A se identifican de forma definitiva mediante la demostración del carbohidrato específico del grupo, una técnica que no era práctica hasta que se introdujeron las pruebas de detección de antígeno directas.

La distinción entre *S. pyogenes* y otras especies de estreptococos mediante el antígeno A específico de grupo se puede determinar por su susceptibilidad a bacitracina o por la presencia de la enzima L-pirrolidonil-arilamidasa (PYR).

La susceptibilidad a la bacitracina se analiza colocando un disco saturado de bacitracina dentro de una placa inoculada con estreptococos del grupo A; tras una noche de incubación, las cepas que se inhiben por la bacitracina se consideran estreptococos del grupo A.

La prueba PYR mide la hidrólisis de L-pirrolidonil-β-naftilamida y la liberación de β-naftilamina, que en presencia de p-dimetilaminocinnamaldehído da lugar a un compuesto rojo. La ventaja de esta prueba específica es que se tarda menos de un minuto en determinar si la reacción es positiva (*S. pyogenes*) o negativa (todos los demás estreptococos).

*Detección de anticuerpos.

Los pacientes con enfermedad por *S. pyogenes* tienen anticuerpos frente a varias enzimas específicas. Aunque los anticuerpos que se generan frente a la proteína M desempeñan una destacada función para mantener la inmunidad, estos anticuerpos aparecen tardíamente en la evolución clínica de la enfermedad y son específicos de tipo.

Al contrario, la determinación de los anticuerpos frente a la estreptolisina O (prueba de ASLO) es útil para confirmar el diagnóstico de fiebre reumática o glomerulonefritis aguda derivadas de una faringitis estreptocócica reciente.

Estos anticuerpos aparecen entre tres y cuatro semanas tras la exposición inicial al microorganismo y luego persisten. L aprueba de la anti-DNAasa B se debe realizar en caso de sospecha de glomerulonefritis estreptocócica.

2.11.2. Tratamiento.

S. pyogenes es muy sensible a la penicilina. En los pacientes con antecedentes de alergia a la penicilina se puede usar eritromicina o una cefalosporina oral.

Capítulo 3. Métodos de laboratorio para determinar susceptibilidad a los antibióticos.

3.1. Detección molecular de resistencia antimicrobiana.

3.1.1. Introducción.

La determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de una muestra clínica es a menudo crucial para una óptima terapia antimicrobiana de los pacientes infectados. Esta necesidad aumenta con el incremento de la resistencia y la aparición de microorganismos multirresistentes.

Las pruebas son necesarias no sólo para la terapia sino también para controlar la propagación de microorganismos resistentes. Procedimientos estándar y puntos de interrupción se han definido para predecir terapéuticamente la resistencia, tanto en el tiempo así como en diferentes ubicaciones geográficas.

Sin embargo, la presencia de un gen de resistencia no conduce necesariamente al fallo del tratamiento porque el nivel de expresión puede ser bajo.

La resistencia puede ser causada por una variedad de mecanismos:

1. La presencia de una enzima que inactiva el agente antimicrobiano.
2. La presencia de una enzima alternativa para la enzima que es inhibida por el agente antimicrobiano.
3. Una mutación en el blanco terapéutico del agente microbiano.
4 Modificación postranscripcional.
5. Reducir la captación del agente antimicrobiano.

6. Una salida activa del agente antimicrobiano.
7. La sobreproducción de la meta del agente antimicrobiano.

Además, la resistencia puede ser causada por un mecanismo no reconocido previamente. Por otro lado un gen que no se expresa *in vitro* se puede expresar in vivo. Existen métodos basados en sistemas de detección de ácidos nucléicos, que detectan la presencia de genes de resistencia y desempeñan un papel crítico en la elucidación de los mecanismos de resistencia.

Estos métodos se han ampliado enormemente y son cada vez más accesibles para laboratorios de microbiología clínica. Esta accesibilidad no se limita a la detección e identificación de microorganismos sino que se extiende a la detección de propiedades de estos microorganismos, tales como factores de virulencia y resistencia a antimicrobianos. Las técnicas moleculares han estado en desarrollo durante los últimos 30 años, pero el progreso a lo largo de la última década ha sido particularmente rápido.

La aplicación de la tecnología basada en ácidos nucléicos es particularmente útil para microorganismos de crecimiento lento o no cultivable y para la detección de mutaciones puntuales o ciertos genotipos. Figura 26. (Fluit 2001)

3.1.2. PCR.

*Definición:

Es un método no dependiente del cultivo bacteriano para la identificación de especies; mediante la amplificación de porciones específicas de DNA en una muestra (templete).

*Aplicación:

Identificación de microorganismos predeterminados a partir de muestras clínicas o cultivos puros.

*Ventajas:

En comparación al resto de las pruebas de identificación:

•Mayor sensibilidad.

En comparación a la identificación fenotípica:

•Menor tiempo y costo.

•Fácil manejo de muestras bucales y de otros sitios con proporciones elevadas de especies fastidiosas.

•Permite la identificación de especies no-cultivables.

*Desventajas:

En comparación a la identificación fenotípica:

•No permite la realización de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en paralelo a la identificación.

En comparación a la identificación fenotípica e hibridaciones DNA-DNA:

•No permite la cuantificación de especies (excepto PCR en tiempo real).

En comparación a hibridaciones DNA-DNA:

•Bajo número de especies evaluadas.

La técnica de diagnóstico de PCR, (Reacción en Cadena de la Polimerasa) es ampliamente utilizada después de la introducción de una DNA polimerasa termoestable de Thermus aquaticus (Taq polimerasa de DNA) así como el desarrollo de la síntesis automatizada de oligonucleótidos y los termocicladores.

Implica ciclos repetitivos de desnaturalización, alineamiento de primers y extensión para producir múltiples amplificaciones de una secuencia determinada de DNA. Sus características son:

*Especificidad: determinada por el diseño de los primers.
*Sensibilidad: hipotéticamente 1 célula.

En específico para genes de resistencia de *S. pyogenes* los primers que se utilizan son los siguientes: para mefA, 5'-AGT ATC ATT AAT CAC TAG TGC-3 'y 5'-TTC TTC TGG TAC TAA AAG TGG-3'; y para ermB, 5'-GTG CGA AAA AAG TAC TCA ACC-3 'y 5'-AGT AAC TAA ATT GGT ACT GTT TAC-3'.

PCR implica ciclos de calentamiento de la muestra para la desnaturalización, hibridación de los primers, y elongación de los primers por una DNA polimerasa termoestable. En teoría, cada ronda de amplificación da una duplicación del número de DNA de las moléculas blanco, pero el proceso es muy pocas veces eficaz al 100% debido a la presencia de inhibidores, y en las últimas rondas de amplificación la DNA polimerasa puede ser limitada. Sin embargo, durante los últimos años, los nuevos desarrollos en esta tecnología han ampliado la aplicabilidad de PCR (Figura 23 y 24).

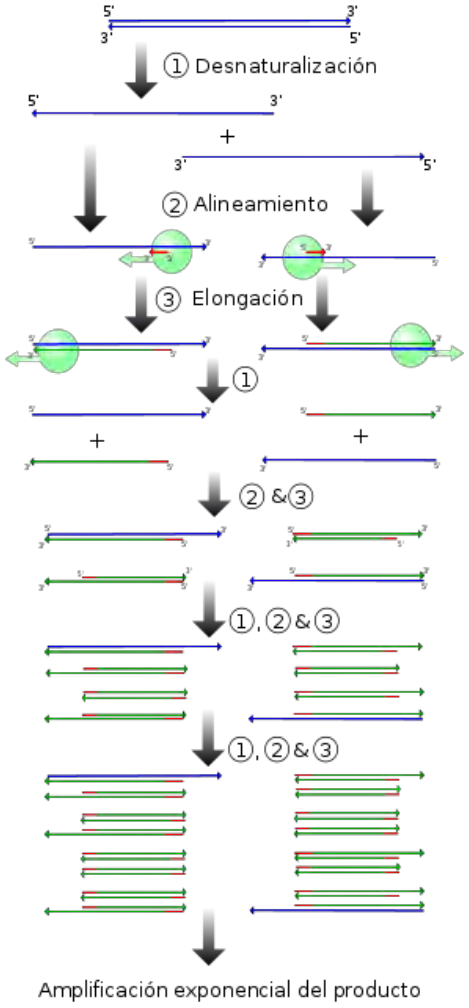


Figura 23. PCR.
es.wikipedia.org

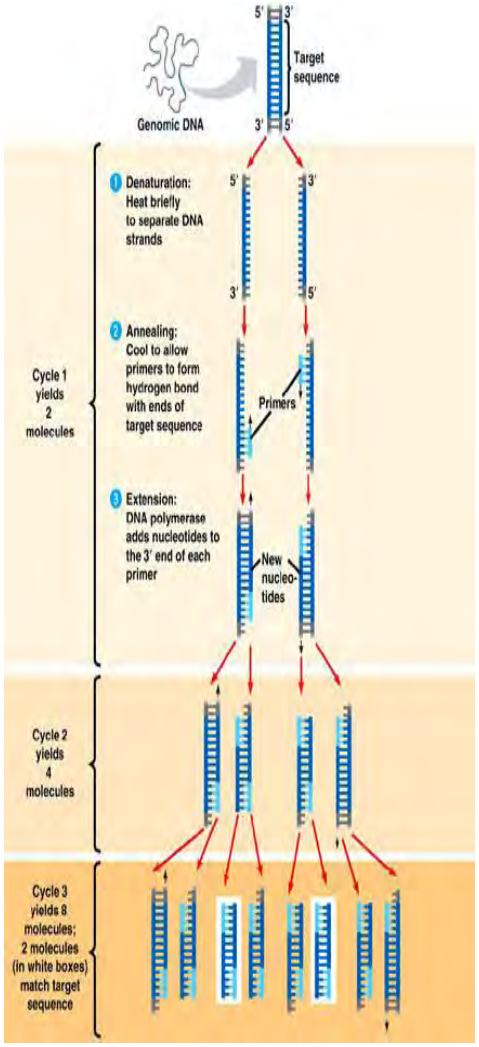


Figura 24. PCR
foodsafetywatch.com

3.2. Antibiogramas.

Los antibiogramas son estudios que se realizan in vitro y nos permiten determinar la resistencia o el grado de sensibilidad de los microorganismos frente a los diferentes antimicrobianos; en lo posible tratan de reproducir las condiciones en que se encuentra el agente infeccioso dentro de los tejidos o los líquidos orgánicos.

En la actualidad no se justifica implementar tratamiento con antimicrobianos selectivos en ausencia de un diagnóstico clínico y de estudios bacteriológicos previos, excepto que se trate de infecciones agudas de origen desconocido que requieran un tratamiento de emergencia, porque amenazan la vida del paciente.

En esos casos, debe suministrarse un antimicrobiano selectivo en forma empírica hasta que se obtenga el resultado del antibiograma, que nos indicara si debe continuarse o no con el antimicrobiano elegido.

El antibiograma es necesario en las siguientes situaciones:

•Cuando no se puede prever o se desconoce la sensibilidad a los antimicrobianos de uso frecuente de un microorganismo aislado.
•Como vigilancia epidemiológica, para detectar la emergencia de patógenos resistentes e informar sobre la evolución de las resistencias conocidas.
•En infecciones microbianas graves que comprometen seriamente la vida del paciente.
•Cuando el cuadro clínico no responde al tratamiento antimicrobiano clásico para esa enfermedad. En este caso, es conveniente suspender el tratamiento al menos 72 horas antes de tomar la muestra y siempre que el cuadro clínico lo permita.

En cambio el antibiograma no es necesario cuando:

•Se trata de microorganismos en los que no se han informado resistencias, microbianas.
•Se trata de gérmenes que han conservado su susceptibilidad a un antimicrobiano selectivo.
*El cultivo del microorganismo presenta demasiadas dificultades técnicas.

Los métodos más conocidos de antibiogramas para bacterias, en general son:

•Dilución en caldo.
•Difusión en agar.
•Dilución en agar.

Los más utilizados son los dos primeros. El método de dilución en caldo es el más exacto y el que posee mayor valor clínico, pero también es complicado, costoso y prolongado; por estos motivos solo se usa para casos especiales.

El método de difusión en agar no es tan exacto como el anterior pero resulta menos costoso, más práctico, sencillo y satisfactorio para la práctica clínica (Figura 26).

El método de dilución en agar se utiliza poco, porque es lento y costoso, además no permite el desarrollo de todos los microorganismos para estudiarlos (Figura 27).

*Método de difusión en agar.

Fue estandarizado por Kerry-Bauer en los Estados Unidos en 1966, representa la prueba de susceptibilidad más ampliamente utilizada en bacteriología clínica, porque permite obtener resultados bastante exactos mediante un método estandarizado, sencillo, de ejecución rápida, económica y fácil de reproducir (Figura 25 y 28).

Puede realizarse como método cuantitativo, semicuantitativo o cualitativo, éste último es el más utilizado. El comité de expertos de la OMS (NCCLS EN SU DOCUMENTO M7-T) publicó las normas para efectuar algunas modificaciones el descrito por Bauer de manera que los resultados sean comparables en todas partes del mundo. Estas normas tienen en cuenta:

*Condiciones de la cepa.

•Debe aislarse el material en estudio.
•Debe obtenerse en forma de cultivo puro.
•Debe ser el agente etiológico del proceso infeccioso.
•Podrán utilizarse cepas de referencia cuando existan dudas en el material que se usa.

*Cualidades de los discos de papel.

•Deben tener un tamaño de 5 a7 mm y un espesor de 0,02 mm.
•Deben cargarse con una concentración de antimicrobiano selectivo de manera que se obtenga una zona de inhibición no mayor de 40 mm.
•La cantidad del antimicrobiano selectivo que contiene cada disco debe ser justa, porque una sobrecarga falsearía los resultados.

•Deben mantenerse almacenados a temperaturas de 4º C o, según las Instrucciones del fabricante, para que no haya deterioro en la potencia de la droga.
•Tiene que estar en un ambiente con sustancias desecadoras para evitar los vapores de condensación al almacenarlos en el refrigerador.

*Requisitos del medio de cultivo.

Se propone el empleo del agar de Müller-Hinton porque:

•Da resultados satisfactorios con las cepas de referencia.
•Permite el desarrollo de la mayoría de los microorganismos patógenos.
•No antagoniza con ninguno de los antimicrobianos selectivos con los que se realiza la prueba.
•Posee un pH de 7,2 a 7,4.

*Indicaciones para la preparación de las placas.

•El medio deberá distribuirse uniformemente en la caja.
•La altura del medio debe ser de 4 mm para que pueda estandarizarse la difusión de la droga, porque si se disminuyera el espesor de la capa de agar se obtendrían halos de inhibición más amplios.

*Control de calidad.

Cada vez que se utiliza un nuevo lote de discos o agar deben probarse con las siguientes cepas de referencia: *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa.*

*Técnica.

•A partir de un cultivo puro del microorganismo que se va a estudiar, con un desarrollo de 18 horas en placa de agar, se toman 4 a 5 colonias y se las suspende en caldo Müller-Hinton o en un hidrolizado de soja y caseína.
•Se incuba entre 2 y 5 horas.
•Inmediatamente se sembrará una placa con agar de Müller-Hinton según la siguiente técnica, se embebe un hisopo de algodón estéril en el inoculo, se elimina el exceso de líquido contra las paredes del tubo y se aplica sobre la superficie del agar estriándolo tres veces.
•Se deja secar entre 3 y 5 minutos.
•Con una pinza estéril de puntas finas se colocan, sobre la superficie del agar sembrado con discos individuales; éstos llevan impresa la abreviatura del antimicrobiano selectivo en el cual se encuentran embebidos y la serie a la cual pertenecen.
•Se deja la placa no menos de media hora a temperatura ambiente para que el disco absorba agua del medio de cultivo y así permita la difusión radial del antimicrobiano selectivo, lo que produce un gradiente de concentración.
•Luego se incuba durante 12 a 18 horas a 37º C. (Negroni 2009)

Figura 25. Técnica de difusión en agar.
cuencarural.com

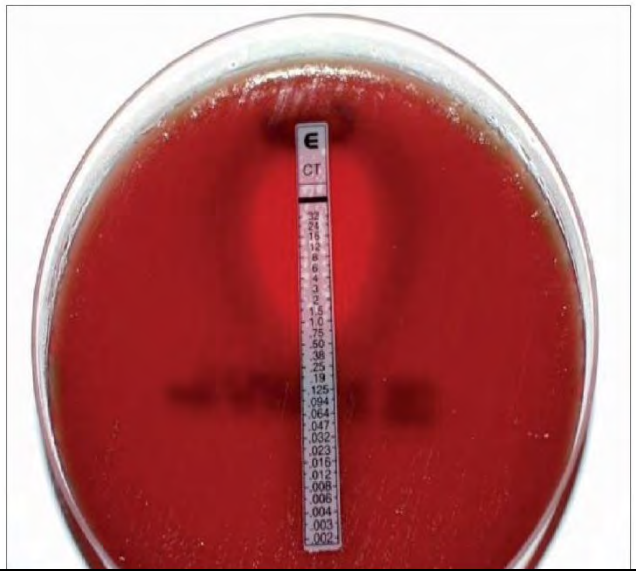


Figura 26. Prueba epsilométrica o E-test. apcontinuada.com

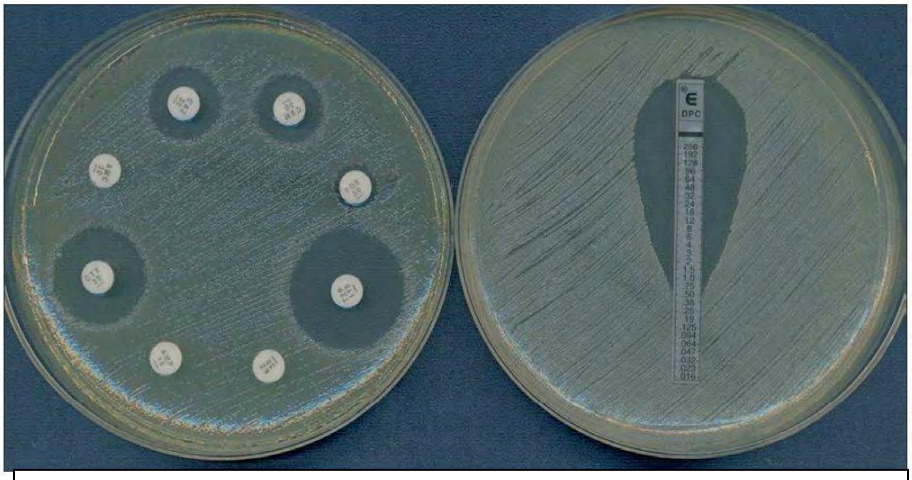


Figura 27. Métodos de difusión en agar. apcontinuada.com

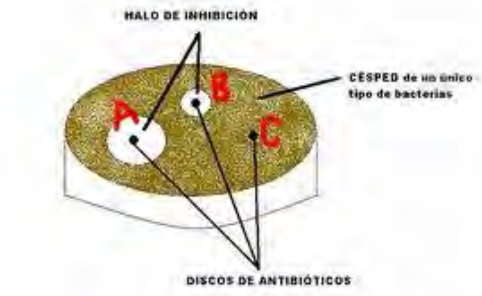


Figura 28. Halo de inhibición. 2abiotecno.blogspot.com

Capítulo 4. Impacto biopsicosocial de la resistencia a los antibióticos de *S. pyogenes*.

4.1. Impacto social.

Resistencia a los antibióticos ha aumentado, al mismo tiempo, el desarrollo en el suministro de medicamentos nuevos para reemplazar a los que son ineficientes ha ido disminuyendo, lo que lleva a la preocupación de que pronto se puede carecer de medios eficaces para tratar las infecciones bacterianas.

Se ha dicho que el descubrimiento de antibióticos ha cambiado la medicina de un diagnóstico para convertirla en una disciplina terapéutica. El acceso a antibióticos eficaces es de valor fundamental para la sociedad.

Es difícil presentar un panorama completo de la magnitud del problema que sea evaluable a expertos clínicos. La resistencia es un fenómeno mundial que afecta a muchos tipos de infecciones, particularmente en los países en desarrollo. A pesar de algunas variaciones de un año a otro, la resistencia a antibióticos ha sido bastante constante en el tiempo.

Los costos sociales son directos hacia la atención de la salud y el valor de la productividad (Figura 29). Otro motivo de preocupación es el hecho de que las empresas farmacéuticas parecen haber reducido la inversión en la investigación de nuevos antibióticos por falta de incentivos económicos más prometedores.

La preservación de la eficacia de las sustancias presentes implica la restricción del uso, La condición de todo el uso de antibióticos es con receta

médica, y hacer hincapié en la importancia de escoger la terapia óptima con respecto a la sustancia.

La administración, la dosis, la duración, y la elección del tratamiento óptimo requieren el acceso a medios de diagnóstico rápidos y fiables que pueden ser un problema fuera del ámbito hospitalario.

Frente a los pacientes afectados que presentan síntomas de difícil diagnóstico, los médicos requieren prescribir antibióticos de amplio espectro que causen efectos adversos sobre la resistencia, con el inconveniente que ciertos sectores de la población no cuentan con incentivos económicos suficientes para cubrir los gastos.

Esta situación aumenta la preocupación en relación con el acceso a los antibióticos para los pacientes menos prósperos y, por tanto, se limita el acceso, asimismo aumentan los costos de desarrollo en la investigación, afectando la propiedad de las empresas farmacéuticas.

La oferta de nuevos antibióticos depende de la investigación y el desarrollo para descubrirlos y comercializarlos. El resultado de este proceso depende de lo difícil que resulte para los investigadores identificar las sustancias con las características deseadas.

Cada vez son más rigurosos los requisitos para la aprobación, más recursos se necesitan para satisfacer dichas normas. En cuanto a los antibióticos, nuestra comprensión de los mecanismos biológicos es imperfecta (no menos con respecto a los mecanismos que causan la resistencia), por lo que los costos de la investigación y desarrollo pueden ser sustanciales. La mayor parte del trabajo de se lleva a cabo por las empresas

farmacéuticas que dependen de los ingresos de ventas para financiar su funcionamiento.

En consecuencia, parece que la insuficiencia de incentivos financieros para que inviertan es una importante razón para la escasez de nuevas sustancias antibióticas.

La falta de incentivos y el conocimiento de éstas causas son importantes razones por las cuales el problema de la resistencia a los antibióticos es difícil de superar. El aumento de los incentivos para el suministro de nuevos antibióticos requiere fondos para subsidiar los costos de investigación y desarrollo. Para aumentar la concientización, se requiere financiación para difundir más información sobre el alcance del problema. (Höjgård 2012)

Figura 29. Limitaciones en la atención a la salud, costos económicos. eleccioneseltabo.blogspot.com

4.1.1. Uso indiscriminado de antibióticos.

El fenómeno de la resistencia bacteriana en muy dinámico: tiene múltiples causas donde la más importante ha sido el uso y abuso de los agentes antimicrobianos (File 1999), (Figura 30). Por tal razón se implemento una ley que restringe la venta de antibióticos que cita lo siguiente:

"ACUERDO POR EL QUE SE DETERMINAN LOS LINEAMIENTOS A LOS QUE ESTARA SUJETA LAVENTA Y DISPENSACION DE ANTIBIOTICOS"

PRIMERO.- Para efectos de lo dispuesto en los artículos 226 fracción IV y último párrafo y, 227 de la Ley General de Salud, la venta y dispensación de antibióticos deberá llevarse a cabo única y exclusivamente contra la exhibición de la receta médica correspondiente, la cual deberá elaborarse de conformidad con lo dispuesto en los artículos 31 y 32 del Reglamento de Insumos para la Salud, conforme a lo siguiente:

I.- Cuando se trate de medicamentos genéricos deberá anotar la denominación genérica y, si lo desea, podrá indicar la denominación distintiva de su preferencia;

II.- En los demás casos podrá expresar la denominación distintiva o conjuntamente las denominaciones genérica y distintiva, y

III.- La prescripción en las instituciones públicas se ajustará a lo que en cada una de ella se señale debiéndose utilizar en todos los casos únicamente las denominaciones genéricas de los antibióticos incluidos en el cuadro básico de insumos para el primer nivel de atención o en el catálogo de insumos para el segundo y tercer nivel. Por excepción, y con la autorización que corresponda, podrán prescribirse otros antibióticos.

Lo anterior con independencia de que se deberán observar las demás disposiciones aplicables.

SEGUNDO.- A efecto de garantizar lo dispuesto en el párrafo anterior, todo establecimiento que venda o dispense antibióticos al menudeo a usuarios y al público en general, deberá:

I. Llevar un registro en el que se asienten todos y cada uno de los siguientes datos:

a. La fecha de adquisición.

b. La fecha de venta, dispensación o desechamiento del antibiótico.

c. La denominación distintiva del antibiótico del que se trate y/o denominación genérica en caso necesario.

d. La presentación del antibiótico.

e. La cantidad adquirida, vendida, dispensada o desechada.

f. Nombre del que prescribe la receta, número de cédula profesional y domicilio, esto aplicará cuando no sea retenida la receta, en caso de retención de la misma, puede prescindirse de estos tres datos pero deberá hacerse referencia a la receta retenida, mediante un número consecutivo que correlacione el registro y la receta respectiva, (Figura 31).

II. Toda receta retenida y su registro correspondiente deberán conservarse por un periodo de 365 días naturales.

III. Cada vez que se surta el antibiótico, deberá sellarse la receta indicando en ella la cantidad vendida y la fecha de la venta. Al momento de agotarse la cantidad de antibiótico prescrita, deberá retenerse la receta por el establecimiento, y

IV. La receta deberá surtirse únicamente dentro del tiempo de duración del tratamiento indicado como lo ordena el artículo 30 del Reglamento de Insumos para la Salud.

TERCERO.- La Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, publicará y mantendrá actualizada la lista de antibióticos por denominación genérica, o distintiva y genérica correspondiente, que estarán

sujetos a este control, para consulta pública en su portal electrónico de Internet.

CUARTO.- Se instruye a la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, para que en coordinación con las autoridades sanitarias de las entidades federativas y en el ámbito de sus respectivas competencias, lleven a cabo la vigilancia de las disposiciones previstas en el presente Acuerdo.

TRANSITORIO

UNICO. El presente Acuerdo entrará en vigor 90 días después de su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

En México, Distrito Federal, a los diecisiete días del mes de mayo de dos mil diez.- El Secretario de Salud, José Ángel Córdova Villalobos.- Rúbrica. (Ley General de Salud 2010).

Figura 30.Uso indiscriminado de antibióticos. msc.es

Figura 31. Restricción en la venta de antibióticos. salud.df.gob.mx

4.2. Biológico.

S. pyogenes produce diversas enfermedades infecciosas entre las que destaca la faringitis en nuestro país, asimismo la fiebre reumática se asocia como una respuesta autoinmune retardada de la faringitis.

Fiebre reumática es una enfermedad inflamatoria, aguda o subaguda, no supurativa, sistémica del tejido conectivo, que aparece como una secuela retardada de una infección faringitis, en personas con predisposición genética a la enfermedad. La puerta de entrada se reconoce en un alto porcentaje en los casos con antecedentes de enfermedad estreptocócica, bajo la forma de faringoamigdalitis y/o piodermitis.

De los individuos afectados por una faringitis estreptocócica desarrolla fiebre reumática el 0.3% en condiciones endémicas, que aumenta a 3% durante epidemias. Aparece tras un intervalo libre de síntomas de 1 a 3 semanas, después de una faringitis o amigdalitis, cuando a menudo ya no quedan estreptococos patógenos ni en la faringe ni en ningún otro órgano. Por esto se la considera una enfermedad meta-estreptocócica de patogenia inmunológica. Afecta las articulaciones, el cerebro, el tejido celular subcutáneo, la piel, y el corazón. En este último, puede afectar el pericardio (pericarditis), el miocardio (miocarditis), o el endocardio (endocarditis) por lo que en la fase aguda produce una pancarditis que deja secuelas en las válvulas cardíacas (valvulopatía reumática) en la fase crónica.

Aunque la denominación “reumática” (del griego, rheo: correr) se refiere a la afectación articular, que es la más llamativa, la gravedad de la enfermedad depende, sin duda, de la frecuente afectación cardiaca.

Es una patología muy común a nivel mundial, responsable de muchos casos de daño en las válvulas cardiacas. El saber reconocer y tratar una Fiebre Reumática en sus estados iniciales es importante para evitar estas secuelas posteriores. (Cáceres 2009)

4.3. Impacto Psicológico.

Los mecanismos de resistencia a antibióticos que presenta *S. pyogenes* repercuten en el estado psicológico de los pacientes ya que ellos en varias ocasiones optan por abandonar el tratamiento, la no adherencia a los tratamientos médicos es un problema muy importante en nuestras sociedades que afecta a más de la mitad de los pacientes, (Figura 32 y 33).

Existe una desmotivación por la terapia farmacológica resultado de la tardanza en observar mejoría en el estado de salud. Otra de las causas de abandono en el tratamiento es por una dosificación demasiado complicada para el paciente, además que el costo económico aumenta cuando las alternativas de tratamiento habituales no funcionan. (Sirvent 2009)

Figura 32. Desánimo. gestiopolis.com

Figura 33. Abandono del tratamiento. salud180.com

4.4. Impacto Médico.

Desafortunadamente, el espectro de agentes que puedan ser eficaces contra *S. pyogenes* es limitada, (Figura 34), por los mecanismos de resistencia que presenta a macrólidos. Infecciones causadas por *S. pyogenes* son una amenaza para la salud y como tal, los nuevos antibióticos que tratan estas infecciones se necesitan de manera crítica. Se está dando un enfoque basado en la estructura de la bacteria, eligiendo una serie de propargilos, (Figura 35), vinculados a antifolatos. Se diseñan y sintetizan demostrando que poseen actividad antibacteriana muy potente.

Estos antifolatos caracterizados por un enlazador único propargílico muestran actividad frente a un amplio grupo de enzimas, sin embargo aún se sigue estudiando su eficacia y seguridad. Los mecanismos de resistencia que presenta *S. pyogenes* limitan las opciones de tratamiento para los médicos, lo cual representa un problema. (Viswanathan 2012)

Figura 34. Limitaciones en opciones de tratamiento. almenaradepinto.wordpress.com

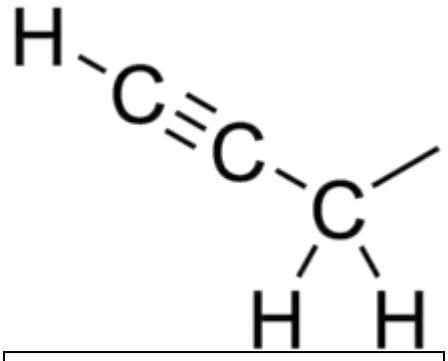


Figura 35. Propargilo. es.wikipedia.org

V. CONCLUSIONES.

Streptococcus pyogenes es una bacteria Gram positiva, con morfología de coco esférico, abarca un diámetro entre 1 y 2 µm, no motil, con crecimiento óptimo en agar sangre enriquecido, se inhibe con una concentración elevada de glucosa, catalasa negativo, β- hemolítico, grupo A de Lancefield. Es responsable de enfermedades relativamente comunes como es faringitis, hasta enfermedades invasivas como lo es síndrome de shock tóxico estreptocóccico.

Su virulencia está determinada por la capacidad de adherirse a la superficie de las células epiteliales y producir una variedad de toxinas y de enzimas, como exotoxinas pirógenas estreptocócicas (Spe), estreptolisina S, estreptolisina O, estreptocinasa ó fibrolisina, desoxirribonucleasas y hialuronidasa.

Produce diversas enfermedades infecciosas, entre las cuales destacan: faringitis, escarlatina, impétigo, erisipela, fascitis necrosante, neumonía, bacteremia, síndrome del shock tóxico estreptocóccico, fiebre reumática y glomerulonefritis aguda.

El antibiótico de elección para el tratamiento de infecciones por *S. pyogenes* es la penicilina, indicándose los macrólidos y lincosamidas en los pacientes alérgicos a antibióticos ß-lactámicos. Adicionalmente, en infecciones invasoras se administra clindamicina pues la monoterapia con penicilina no es absolutamente eficaz.

Actualmente se ha reportado que ha desarrollado mecanismos de resistencia a antibióticos principalmente a eritromicina, por los genes “mefA” y “ermB”, específicamente por una alteración en la entrada de la droga “efflux”, así

como por una metilasa que media la modificación del sitio de unión ribosomal a los macrólidos en la subunidad 23S.

Los métodos que se utilizan para la detección de resistencia a antibióticos son moleculares, como lo es PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) mediante la amplificación de porciones específicas de DNA con ciclos repetitivos de desnaturalización, alineamiento de primers y extensión para producir múltiples amplificaciones de una secuencia determinada de DNA, específicamente de los genes de resistencia implicados en la resistencia mefA y ermB.

Así como antibiogramas que son estudios que se realizan in vitro y nos permiten determinar la resistencia o el grado de sensibilidad de los microorganismos frente a los diferentes antimicrobianos; en lo posible tratan de reproducir las condiciones en que se encuentra el agente infeccioso dentro de los tejidos o los líquidos orgánicos.

Dichos mecanismos de resistencia se atribuyen principalmente al uso indiscriminado de antibióticos. Estos mecanismos tienen un impacto en diversos niveles. A nivel biológico, el retraso en la resolución de la enfermedad promueve la evolución de enfermedades más invasivas. Bajo ciertas condiciones inmunológicas una faringitis es el antecedente de desarrollar fiebre reumática, ésta, es una patología muy común a nivel mundial, responsable de muchos casos de daño en las válvulas cardiacas. El conocer esta relación es importante para evitar secuelas posteriores.

En nivel psicológico, los pacientes presentan repercusiones, ya que al no observar mejoría rápida en su estado de salud, optan por abandonar el tratamiento. La no adherencia a los tratamientos médicos es un problema

muy importante en nuestras sociedades que afecta a más de la mitad de los pacientes. Existe una desmotivación por la terapia farmacológica.

Social y económicamente, la problemática radica en que los mecanismos de resistencia representan gastos para los laboratorios farmacéuticos, se ha reducido la inversión financiera en el área de la investigación. Además para el paciente también tiene un costo económico y desafortunadamente no todos cuentan con los recursos necesarios para solventar los gastos. Socialmente la atención a la Salud se ve limitada.

En el ámbito médico se reducen las opciones de tratamiento pues los antibióticos de primera elección ya no resultan eficaces, el médico tiene el conflicto de cómo erradicar la enfermedad, los nuevos antibióticos que tratan estas infecciones se necesitan de manera crítica. Se está dando un enfoque basado en la estructura de la bacteria, eligiendo una serie de propargilos, vinculados a antifolatos. Se diseñan y sintetizan demostrando que poseen actividad antibacteriana muy potente.

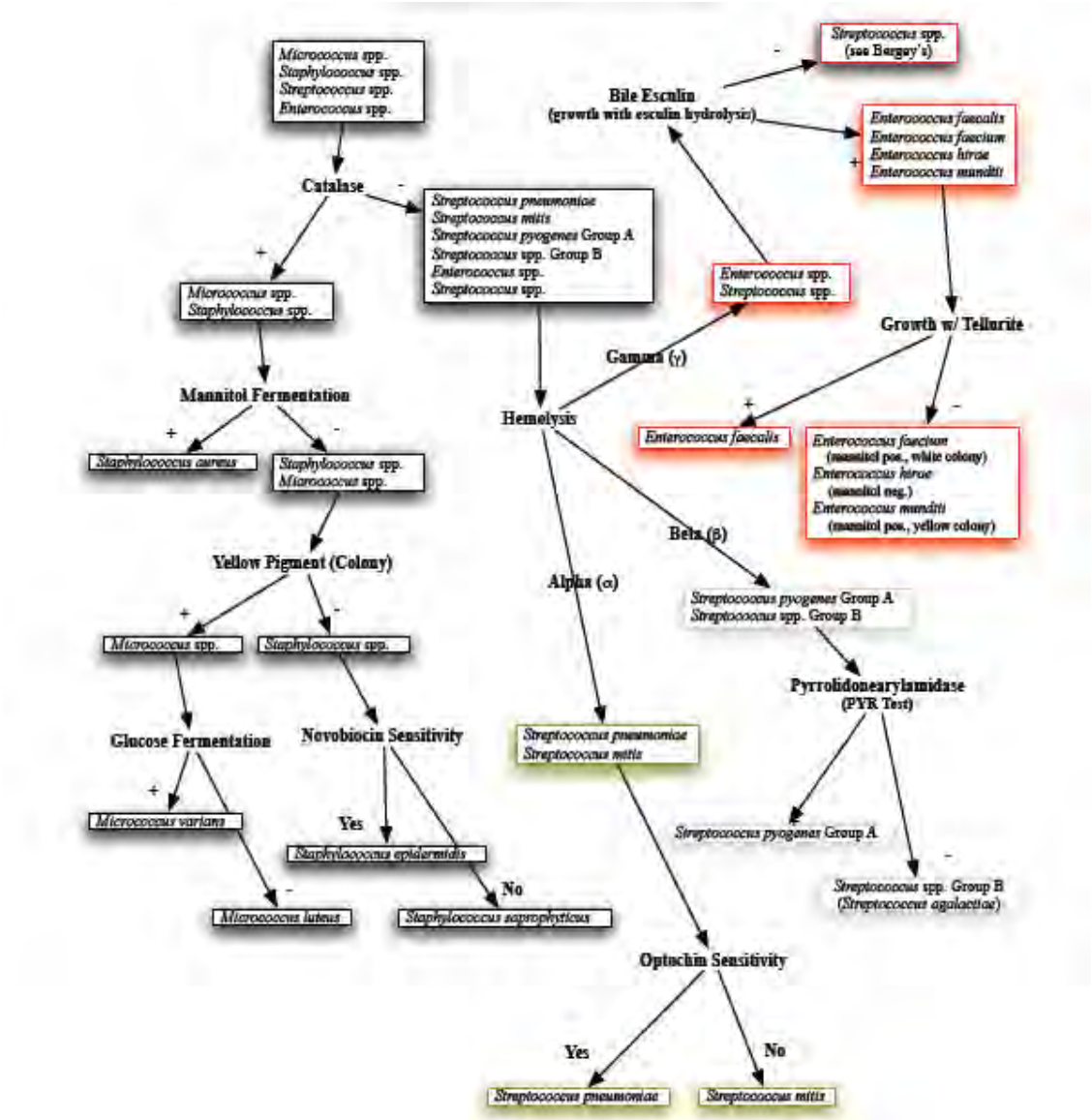
Estos antifolatos caracterizados por un enlazador único propargílico muestran actividad frente a un amplio grupo de enzimas, sin embargo aún se sigue estudiando su eficacia y seguridad. Los mecanismos de resistencia que presenta *S. pyogenes* limitan las opciones de tratamiento para los médicos, lo cual representa un problema para su tratamiento.

VI. REFERENCIAS.

1. Albrich, W. C., D. L. Monnet, et al. (2004). "Antibiotic selection pressure and resistance in Streptococcus pneumoniae and Streptococcus pyogenes." Emerg Infect Dis **10**(3): 514-7.
2. Barriga, G., et al. (2008). "Estado actual de la susceptibilidad antimicrobiana de los microorganismos causales más frecuentes de infecciones respiratorias comunitarias." Enfermedades Infecciosas y Microbiología, **28**(3): 106-13.
3. Becerra, G., et al. (2009). " Mecanismo de Resistencia a antimicrobianos en bacterias." Enfermedades Infecciosas y Microbiología **29**(2): 70-6.
4. Brenciani, A., E. Tiberi, et al. "Two distinct genetic elements are responsible for erm (TR)-mediated erythromycin resistance in tetracycline-susceptible and tetracycline-resistant strains of Streptococcus pyogenes." Antimicrob Agents Chemother **55**(5): 2106-12.
5. Cáceres, G. H., (2009). "FIEBRE REUMÁTICA." Revista de Posgrado de la Vía Cátedra de Medicina **194**: 14-5.
6. Casellas, J. M., et al. (2011). "Resistencia a los antimicrobianos en América Latina, consecuencias para la infectología." Revista Panamericana Salud Pública **30**: 522.
7. Clancy, J., J. Petitpas, et al. (1996). "Molecular cloning and functional analysis of a novel macrolide-resistance determinant, mefA, from Streptococcus pyogenes." Mol Microbiol **22**(5): 867-79.
8. Courtney, H. S., I. Ofek, et al. (2009). "Relationship between expression of the family of M proteins and lipoteichoic acid to hydrophobicity and biofilm formation in Streptococcus pyogenes." PLoS One **4**(1): e4166.
9. Del Grosso, M., et al. (2011). "Genetic Resistance Elements Carrying mef Subclasses Other than mef(A) in Streptococcus pyogenes." Antimicrob Agents Chemother **55**(7): 3226-3230.
10. Farrel, D. J., et al. (2006). "Streptococcus pyogenes isolates with high-level macrolide resistance and reduced susceptibility to telithromycin associated with 23S rRNA mutations." Antimicrob Agents Chemother **50**(1): 817-8.
11. Fluit, A., (2001). " Molecular Detection of Antimicrobial Resistance." CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS **14(**4): 837-49.
12. Gagliotti, C., L. Nobilio, et al. (2006). "Macrolide prescriptions and erythromycin resistance of Streptococcus pyogenes." Clin Infect Dis **42**(8): 1153-6.
13. Granizo, J. J., L. Aguilar, et al. (2000). "Streptococcus pyogenes resistance to erythromycin in relation to macrolide consumption in Spain (1986-1997)." J Antimicrob Chemother **46**(6): 959-64.

14. Green, M. D., B. Beall, et al. (2006). "Multicentre surveillance of the prevalence and molecular epidemiology of macrolide resistance among pharyngeal isolates of group A streptococci in the USA." J Antimicrob Chemother **57**(6): 1240-3.
15. Harrison, (2009). "Principios de Medicina interna", 17ª ed. Edit. Mc Graw Hill Interamericana, México: 210-1
16. Li, X. Z. and H. Nikaido (2009). "Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update." Drugs **69**(12): 1555-623.
17. Ley General de Salud. Nueva Ley publicada en el Diario de Oficial da la Federación , con reforma publicada DOF 27-04-2010
18. Malbruny, K. N., et al. (2002). "Resistance to macrolides in clinical isolates of Streptococcus pyogenes due to ribosomal mutations." Antimicrob Chemother **49**: 935-9.
19. Malhotra-Kumar, S., C. Lammens, et al. (2007). "Effect of azithromycin and clarithromycin therapy on pharyngeal carriage of macrolide-resistant streptococci in healthy volunteers: a randomised, double-blind, placebo-controlled study." Lancet **369**(9560): 482-90.
20. Murray, R. P., (2009). "Microbiología médica", 6ª ed. Edit. Elsevier, España: 225-229.
21. Negroni. (2009). "Microbiología estomatológica", 2ª ed. Ed. Médica Panamericana. México: 220-30.
22. Piddock, L. J. (2006). "Multidrug-resistance efflux pumps - not just for resistance." Nat Rev Microbiol **4**(8): 629-36.
23. Putman, M., H. W. van Veen, et al. (2000). "Molecular properties of bacterial multidrug transporters." Microbiol Mol Biol Rev **64**(4): 672-93.
24. Richter, S. S., K. P. Heilmann, et al. (2005). "Macrolide-resistant Streptococcus pyogenes in the United States, 2002-2003." Clin Infect Dis **41**(5): 599-608.
25. Seppala, H., A. Nissinen, et al. (1993). "Three different phenotypes of erythromycin-resistant Streptococcus pyogenes in Finland." J Antimicrob Chemother **32**(6): 885-91.
26. Sirvent, Carlos., (2009). "Fracaso, abandono y cumplimiento terapéutico." NORTE DE SALUD MENTAL **33**: 51-8.
27. Seppala, H., M. Skurnik, et al. (1998). "A novel erythromycin resistance methylase gene (ermTR) in Streptococcus pyogenes." Antimicrob Agents Chemother **42**(2): 257-62.
28. Höjgård, S., et al.(2012). "Antibiotic resistance – why is the problem so difficult to solve?." Infect Ecol Epidemiol **2**: 1-10.
29. Varaldo, P. E., M. P. Montanari, et al. (2009). "Genetic elements responsible for erythromycin resistance in streptococci." Antimicrob Agents Chemother **53**(2): 343-53.
30. Villaseñor, S. A., (2012). “Phenotypes and genotypes of erythromycin-resistant Streptococcus pyogenes strains isolated from invasive and non-invasive infections from Mexico and the USA during 1999–2010.” International Journal of Infectious Diseases **16**(3): 178-181.

31. Viswanathan, K., (2012). " Toward New Therapeutics for Skin and Soft Tissue Infections: Propargyl-Linked Antifolates Are Potent Inhibitors of MRSA and *Streptococcus pyogenes."* PLoS One **7**(2):1-5.
32. Weisblum, B. (1995). "Erythromycin resistance by ribosome modification." Antimicrob Agents Chemother **39**(3): 577-85.
33. Weisblum, B. (1995). "Insights into erythromycin action from studies of its activity as inducer of resistance." Antimicrob Agents Chemother **39**(4): 797-805.
34. Zhong, P. and V. D. Shortridge (2000). "The role of efflux in macrolide resistance." Drug Resist Updat **3**(6): 325-329.

VII. ANEXOS.

ANEXO 1.Esquema del manual de Determinantes Bacteriológicos Bergey´s para *Streptococcus pyogenes*.