



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO:

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA C REACTIVA (PCR), FACTOR REUMATOIDE (FR) Y ANTIESTREPTOLISINA O (ASTO) EN SECRECIONES FARÍNGEAS POSITIVAS PARA ESTREPTOCOCCO PYOGENES EN LOS ADULTOS MAYORES DEL BARRIO OBRAPÍA.

TESIS PREVIA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE LICENCIADO EN
LABORATORIO CLÍNICO.

AUTOR:

RUBÉN DARÍO CUENCA FLORES

DIRECTORA:

Lic. GLENDA ALFARITA RODRÍGUEZ LEÓN, Mg.Sc.

Loja – Ecuador

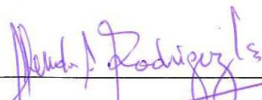
CERTIFICACIÓN

Loja, 07 de Mayo del 2015

Lic. Glenda Alfarita Rodríguez León, Mg.Sc.
DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICA

En calidad de directora de tesis certifico que la presente tesis titulada: **“DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA C REACTIVA (PCR), FACTOR REUMATOIDE (FR) Y ANTIESTREPTOLISINA O (ASTO) EN SECRECIONES FARÍNGEAS POSITIVAS PARA ESTREPTOCOCO PYOGENES EN LOS ADULTOS MAYORES DEL BARRIO OBRAPÍA”**, elaborada por el estudiante Rubén Darío Cuenca Flores, perteneciente a la Universidad Nacional de Loja del Área de la Salud Humana de la Carrera de Laboratorio Clínico, ha sido desarrollada, corregida y autorizada bajo mi dirección, cumpliendo con los requisitos reglamentarios establecidos para su aprobación, por lo tanto faculto a autor para su presentación, disertación y defensa.



Lic. Glenda Alfarita Rodríguez León, Mg.Sc.

DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, Rubén Darío Cuenca Flores, declaro ser autor del trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja, y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de la tesis en el Repositorio Institucional – Biblioteca Virtual.

Autor: Rubén Darío Cuenca Flores

Firma:.....

Cédula: 1104893662

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, Rubén Darío Cuenca Flores, declaro ser autor de la tesis titulada: **“DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA C REACTIVA (PCR), FACTOR REUMATOIDE (FR) Y ANTIESTREPTOLISINA O (ASTO) EN SECRECIONES FARÍNGEAS POSITIVAS PARA ESTREPTOCOCO PYOGENES EN LOS ADULTOS MAYORES DEL BARRIO OBRAPÍA”** como requisito para optar al grado de licenciado en Laboratorio Clínico; autorizo al sistema bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestren al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad en su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior y con las cuales tengan convenio la Universidad.

La Universidad no se responsabiliza por el plagio o copia de tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la Ciudad de Loja, a los 07 días del mes de Mayo del dos mil quince.

Firma: .....

Autora: Rubén Darío Cuenca Flores

Cédula: 1104893662

Dirección: Barrio Obrapía

Correo electrónico: rubencho-666@hotmail.es

Teléfono: 2676297

Celular: 0979674612

DATOS COMPLEMENTARIOS

Directora de tesis: Lic. Glenda Alfarita Rodríguez León, Mg.Sc.

Presidenta de grado: Dra. Elsa Ramírez

Primer Miembro: Dra. Paola Benítez

Segundo Miembro: Lic. María del Cisne Loján

DEDICATORIA

La realización de esta investigación está dedicada a Dios por darme la fuerza para terminar con éxitos mi carrera.

A mis padres por ser el pilar fundamental en mi vida y darme el apoyo necesario para cumplir esta meta.

A mis hermanos y a mi familia en general que me han apoyado moralmente para culminar esta nueva etapa de mi vida.

Rubén Darío Cuenca Flores.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de Loja, al Área de la Salud Humana y especialmente a la Carrera de Laboratorio Clínico por recibirme en sus aulas para mi formación profesional.

Al director del Subcentro de Obrapía por la apertura para la utilización de las instalaciones para la toma de muestras.

A los adultos mayores que formaron parte de mi estudio y que gracias a ellos logre la realización de esta tesis.

Al Laboratorio San Pablo que me abrió las puertas para realizar el análisis de laboratorio.

A un agradecimiento muy en especial a la Lic. Glenda Rodríguez, Mg. Sc. por el apoyo brindado durante el desarrollo de la presente investigación

Rubén Darío Cuenca Flores.

1. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA C REACTIVA (PCR), FACTOR REUMATOIDE (FR) Y ANTIESTREPTOLISINA O (ASTO) EN SECRECIONES FARÍNGEAS POSITIVAS PARA ESTREPTOCOCCO PYOGENES EN LOS ADULTOS MAYORES DEL BARRIO OBRAPÍA.

2. RESUMEN

La Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y la Antiestreptolisina O (ASTO) son pruebas serológicas que contribuyen al diagnóstico de enfermedades reumáticas, la Proteína C Reactiva suele verse alterada en presencia de inflamación por lo que sería una prueba sensible y de utilidad, al igual que el factor reumatoide (1). Cuando el valor de Antiestreptolisina O resulta positivo sugiere la existencia de faringitis estreptocócica previa causada por la bacteria *Streptococo pyogenes*, infección que se confirma con cultivo de secreción faríngea (2); si la infección por esta bacteria no es tratada puede dar origen a la fiebre reumática (3). En el presente estudio se realizó la identificación de *Streptococo pyogenes* en secreciones faríngeas mediante cultivo, así mismo la determinación de Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y Antiestreptolisina O (ASTO) a pacientes con cultivo faríngeo positivo para *Streptococo pyogenes*, se relacionó el cultivo faríngeo y las pruebas serológicas. Una vez obtenidos los resultados la información fue difundida en el barrio Obrapía al personal del Subcentro de Salud y a los pacientes adultos mayores que participaron en el estudio. La investigación fue de tipo descriptivo de corte transversal en donde se procedió a la toma de muestra de secreción faríngea a 66 Adultos mayores para realizar el cultivo faríngeo; dando como resultado 10 cultivos faríngeos positivos, a estos pacientes se les realizó las pruebas serológicas de Antiestreptolisina O, Proteína C Reactiva y Factor Reumatoide para conocer la relación que estas tienen con el cultivo. De los 10 (15%) pacientes que tuvieron cultivo faríngeo positivo, el 50% presentaron Antiestreptolisina O positiva, el 20% presentaron Factor Reumatoide positivo y el 30% Proteína C Reactiva positiva.

PALABRAS CLAVES: Cultivo faríngeo, Antiestreptolisina O, Factor Reumatoide, Proteína C reactiva, adulto mayor.

ABSTRACT

The C Reactive Protein (CRP), Rheumatoid Factor (RF) and Antistreptolysin O (ASOT) are serological tests that contribute to the diagnosis of rheumatic diseases, the C Reactive Protein is sometimes altered in the presence of inflammation so it would be a sensitive and useful test, like rheumatoid factor (1). When Antistreptolysin O value is positive suggests the existence of prior streptococcal pharyngitis caused by the bacterium *Streptococcus pyogenes* infection is confirmed by culturing pharyngeal secretion (2); if this infection is not treated could initiate a rheumatic fever (3). In the present study the identification of *Streptococcus pyogenes* was performed in pharyngeal secretions by culture, likewise the determination of C Reactive Protein (CRP), Rheumatoid Factor (RF) and Antistreptolysin O (ASOT) to patients with positive throat culture for *Streptococcus pyogenes*, there were related the throat culture and the serological tests. Once the results were obtained, the information was disseminated in Obrapía neighborhood to the staff of the Health Sub Center and elderly patients enrolled in the study. The research was descriptive cross-sectional where the researchers proceeded to the sampling pharyngeal secretion to 66 Seniors for throat culture; it resulting in 10 positive throat cultures, these patients underwent Antistreptolysin O serological tests, C-Reactive Protein and Rheumatoid Factor to determine the relationship that these ones have with the crop. Of the 10 (15%) patients that showed positive throat culture, 50% presented Antistreptolysin O positive, 20% were rheumatoid factor positive and 30% positive Reactive Protein C.

KEYWORDS: Throat culture, Antistreptolysin O, Rheumatoid Factor, C - reactive protein, elderly.

3. INTRODUCCIÓN

La bacteria estreptococo beta hemolítico del grupo A o *estreptococo pyogenes*, es la causa más frecuente de faringoamigdalitis bacteriana y su importancia médica se debe a sus secuelas no supurativas como la glomerulonefritis y fiebre reumática (4), siendo su frecuencia en adultos del 5% al 10% (5).

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades reumáticas suponen la primera causa de incapacidad física en el mundo occidental (6).

Aunque el *estreptococo pyogenes* puede afectar a individuos de cualquier edad y aparentemente sanos, los factores que con más frecuencia se han asociado al desarrollo de la infección han sido la edad mayor de 65 años (7). En España se calculan 16 millones de casos anuales de infección por estreptococo pyogenes, que equivale del 15% a 20% de todos los casos de infecciones respiratorias (8).

Según la Sociedad Ecuatoriana de Reumatología, la artritis es la patología reumática más frecuente en el mundo y afecta mayoritariamente a las mujeres mayores de 40 años. Además, se estima que entre el 17% y 19% de las incapacidades laborales son provocadas por alguna enfermedad reumática (6). Algunas enfermedades causadas por esta bacteria son: endocarditis bacteriana, fiebre reumática, glomerulonefritis, que puede afectar las articulaciones, el corazón o los huesos y faringitis estreptocócica (2).

Aunque los seres humanos pueden ser portadores asintomáticos de *estreptococo pyogenes* en la nasofaringe o perineo el microorganismo se debe considerar importante si se detecta mediante cultivo u otros medios. La fuente final de estreptococos del grupo A es la persona que alberga estos microorganismos. El individuo puede tener una infección clínica o asintomática o puede ser un portador que distribuya los estreptococos directamente a las demás personas a través de gotículas del sistema respiratorio o por la piel (9).

El estreptococo beta hemolítico tiene la capacidad de producir una exotoxina hemolítica, la estreptolisina O que actúa como un antígeno ante cuya presencia el organismo produce la antiestreptolisina O, útil para detectar en personas que han padecido una infección previa por esta bacteria (2).

Tomando en consideración que enfermedades causadas por *estreptococo pyogenes* presentan una sintomatología que podrían llevar a confundirlas con otras de diferente etiología es importante realizar al paciente las pruebas serológicas de Factor Reumatoide y Proteína C reactiva de tal manera contribuyan a esclarecer el diagnóstico (10).

La Proteína C Reactiva es una proteína que aumenta sus niveles en respuesta inflamatoria, ya que se une a la fosfolipina expresada en la superficie de las células muertas con el fin de activar el sistema del complemento que es un sistema de defensa contra agresiones externas del cuerpo humano y se la utiliza frecuentemente como marcador de inflamación (10).

El Factor reumatoide es una proteína anormal que actúa como autoanticuerpo, es decir un anticuerpo que reacciona contra las propias células del organismo, la más conocida es de tipo inmunoglobulina M (IgM) y actúa contra el fragmento cristalizante (Fc) de la inmunoglobulina G (IgG). Este factor ayuda al diagnóstico de artritis reumatoide (11).

Por la importancia de este problema de salud que afecta a la población entre los que se cuenta al adulto mayor se desarrolló la presente investigación denominada **DETERMINACION DE PROTEINA C REACTIVA (PCR), FACTOR REUMATOIDE (FR) Y ANTIESTREPTOLISINA O (ASTO) EN SECRECIONES FARINGEAS POSITIVAS PARA ESTREPTOCOCO PYOGENES EN LOS ADULTOS MAYORES DEL BARRIO OBRAPIA** con el objeto de determinar la presencia de *estreptococo pyogenes* en secreciones faríngeas, además determinar las pruebas serológicas de Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y Antiestreptolisina O (ASTO) estos pacientes con cultivos faríngeos positivos para *estreptococo pyogenes*; identificar qué relación existe entre las pruebas serológicas con el cultivo faríngeo positivo

para streptococcus pyogenes. La investigación fue de tipo descriptivo de corte transversal en la cual se incluyó a 66 adultos mayores que aceptaron ser parte del estudio. Al término de la investigación se obtuvo que de los 66 Adultos mayores participantes 10 resultaron con cultivo faríngeo positivo para estreptococo pyogenes, de los cuales el 50% de los pacientes presentaron la prueba de Antiestreptolisina O positivo. El 20% de los pacientes presentaron la prueba de Factor Reumatoide positivo y el 30% de los pacientes presentaron la prueba de Proteína C Reactiva positiva. Los resultados obtenidos fueron difundidos en el Subcentro de Salud de Obrapia y se hizo la entrega de trípticos con información acerca de las enfermedades reumatoideas.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. ESTREPTOCOCOS

Los estreptococos son bacterias esféricas grampositivas que de manera característica forman pares o cadenas durante su multiplicación. Tienen una amplia distribución en la naturaleza. Algunos son miembros de la microflora normal de los seres humanos, otros están relacionados con enfermedades humanas importantes atribuibles en parte a la infección por estreptococos, y en parte a la sensibilización a ellos. Los estreptococos elaboran diversas sustancias y enzimas extracelulares. Los estreptococos son un grupo extenso y heterogéneo de bacterias y ningún sistema es suficiente para clasificarlos. No obstante, es imprescindible comprender la clasificación para entender su importancia médica (9).

Los estreptococos con significado médico pueden clasificarse sobre la base de la hemólisis que producen en agar sangre:

Hemólisis completa Beta (β): las especies de estreptococo causan la rotura completa de los eritrocitos. En agar sangre, esto aparece como amplias zonas claras de células de la sangre alrededor de las colonias bacterianas (12).

Streptococcus pyogenes

Streptococcus agalactiae

Hemólisis parcial Alfa (α): especies hemolíticas causan oxidación del hierro en las moléculas de hemoglobina dentro de las células rojas de la sangre, dándole un color verdoso en agar sangre (12).

Streptococcus pneumoniae

Streptococcus viridans

Hemólisis Gamma (γ): no causan hemólisis

Streptococcus milleri

Los estreptococos también pueden dividirse por la presencia o ausencia de un antígeno de grupo (grupo Lancefield) etiquetados de la A hasta S:

- Grupo A - *Streptococcus pyogenes*
- Grupo B - *Streptococcus agalactiae*
- Grupo C - *Streptococcus equisimilis*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus dysgalactiae*
- Grupo D - *Enterococcus*, *Streptococcus bovis*
- Grupo E - *Streptococcus milleri* y *Streptococcus mutans*
- Grupo F - *Streptococcus anginosus*
- Grupo G - *Streptococcus canis*, *Streptococcus dysgalactiae*
- Grupo H - *Streptococcus sanguis*
- Grupo L - *Streptococcus dysgalactiae*
- Grupo N - *Lactococcus lactis*
- Grupo R&S - *Streptococcus suis* (12).

4.1.1. ESTREPTOCOCO DEL GRUPO A: ESTREPTOCOCO PYOGENES

Streptococcus pyogenes (estreptococo del grupo A) es uno de los patógenos bacterianos más importante de los seres humanos. Este microorganismo ubicuo es la causa bacteriana más frecuente de faringitis aguda y también origina distintas infecciones cutáneas y sistémicas. Ocupa un lugar singular en la microbiología médica debido a que la infección puede acarrear dos secuelas no supuradas, la fiebre reumática y la glomerulonefritis postestreptocócica (13).

S. pyogenes es el principal microorganismo patógeno humano que produce invasión local o sistémica y trastornos inmunitarios posestreptocócicos. *S. pyogenes* suele producir zonas grandes (de 1 cm de diámetro) de hemólisis β alrededor de las colonias mayores de 0.5 mm de diámetro y suelen ser susceptibles a la bacitracina (14).

MORFOLOGÍA

Son cocos grampositivo de 0.5 a 1.0 mm., se agrupa en cadenas, su crecimiento óptimo es en agar sangre donde las colonias se observan de color blanco o grises de 1-2 mm con un halo de beta-hemólisis (14).

EPIDEMIOLOGÍA

Los estreptococos del grupo A colonizan normalmente la orofaringe de los niños sanos y de los adultos jóvenes. Aunque se considera que la incidencia del estado de portador es del 15 al 20%, estos datos son equívocos. Se necesitan técnicas de cultivo muy selectivas para detectar un pequeño número de microorganismos en las secreciones orofaríngeas. Además, se había asumido que la colonización con estreptococos del grupo A era sinónimo de la colonización con *S. Pyogenes*. Sin embargo ahora se conoce que *S. Anginosus* puede tener el antígeno específico de grupo A y estar presente en la orofaringe (15).

4.2. ENFERMEDADES ESTREPTOCÓCICAS

- **Faringitis estreptocócica**

La faringitis estreptocócica es una infección provocada por *Streptococcus* del grupo A (*S. pyogenes*) (16).

Signos y síntomas

- Placas rojas y blancas en la garganta.
- Dificultad para tragar.
- Ganglios linfáticos del cuello inflamado, sensible o doloroso al tacto.
- Amígdalas rojas e inflamadas.
- Dolor de cabeza.
- Dolor en las lumbares (parte inferior de la espalda).
- Fiebre.
- Malestar general, inquietud o sensación de tener “mal cuerpo”.
- Pérdida del apetito y náuseas.
- Erupciones cutáneas (16).

- **Fiebre Reumática**

Es una enfermedad inflamatoria que se puede presentar después de una infección con las bacterias estreptococos del grupo A (como la farangitis estreptocócica o la escarlatina). La enfermedad puede afectar el corazón, las articulaciones, la piel y el cerebro (17).

La fiebre reumática es común a nivel mundial y es responsable de muchos casos de daño en las válvulas cardíacas (17).

Los signos y síntomas característicos de la fiebre reumática comprenden fiebre, ataque al estado general, poliartritis migratoria no purulenta y signos de inflamación de todas las capas del corazón (endocardio, miocardio y pericardio). Es característico que la carditis produzca engrosamiento y deformación de las válvulas y que ocasione granulomas perivasculares pequeños en el miocardio que finalmente son remplazados por tejido cicatrizal. La fiebre reumática tiene una notable tendencia a reactivarse por infecciones estreptocócicas recidivantes, en tanto que la nefritis no. El primer ataque de fiebre reumática por lo general produce sólo una leve lesión cardíaca, la que, no obstante, se incrementa con cada ataque subsiguiente (18).

- **Artritis Reumatoide**

La artritis reumatoide es una enfermedad crónica y degenerativa que se caracteriza por la inflamación persistente del tejido sinovial (membrana que alimenta, protege y cubre los cartílagos) de las articulaciones, la inflamación de esta membrana es la responsable del dolor, de la hinchazón claramente visible y de la sensación de rigidez que los pacientes pueden sentir, posteriormente se da la aparición de erosiones óseas, destrucciones del cartílago articular y eventualmente destrucción articular (19).

Síntomas Los síntomas aparecen después de semanas o meses de haber iniciado la afección de una sola articulación, y frecuentemente se asocian como la anorexia, fiebre, fatiga o debilidad (19).

4.3. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

4.3.1. Antiestreptolisina O (ASTO)

El título de ASTO es la medición de anticuerpos antiestreptolisina beta hemolíticos del tipo A. El estreptococo beta hemolítico produce una enzima llamada estreptolisina O, que puede destruir los hematíes y el cuerpo reacciona contra ella produciendo anticuerpos específicos Antiestreptolisina O. La medición de estos anticuerpos la podemos ver reflejado en el análisis de Antiestreptolisina O (20).

La presencia de títulos de Antiestreptolisina O indica una infección por la bacteria estreptococo beta hemolítico del tipo A, que pueden producir fiebre reumática. La elevación de Antiestreptolisina O aparece a la semana de la infección por estreptococo, los valores más elevados se observan después de la tercera semana de la infección y es cuando pueden aparecer las enfermedades secundarias a esta infección (fiebre reumática). El ASTO puede mantenerse elevado hasta los 6 meses en el 30% de los casos. (20)

El examen por antiestreptolisinas O se basa en la capacidad de estos anticuerpos en el suero del paciente, usado en distintas diluciones, para neutralizar una preparación estandarizada de estreptolisina O, impidiendo su actividad hemolítica. El título es el último tubo que muestra ausencia de hemolisis. Todd estandarizó la estreptolisina O de tal manera que 0.5 ml justamente hemoliza 0.5 ml. de una suspensión de eritrocitos de conejo a 37°C. en una hora y consideró ésta como una dosis hemolítica mínima. El mismo después definió una unidad de Antiestreptolisina O como la cantidad de suero que justamente neutraliza 2.5 dosis hemolíticas mínimas de estreptolisina O (21).

Valores normales

Adultos	De < 160 Unidades/ml
Niños menores de 2 años	De <50 Unidades /ml
Niños de entre 2 y 4 años	De < 160 Unidades/ml
Niños entre 4 y 12 años	160-300 Unidades/ml

(22)

4.3.2. Proteína C Reactiva (PCR)

Es una proteína de la fase aguda, es un pentámero de subunidades idénticas, se une al complemento fosforilcolina de los lipopolisacáridos de la pared celular bacteriana y micótica. Pero no a la fosforilcolina de las células humanas, al unirse a las bacterias la proteína c reactiva actúa como una opsonina que puede captar el componente del complemento e iniciar así la vía clásica de activación del complemento en ausencia de anticuerpos específicos (23).

Se dice que es una proteína de fase aguda por su presencia en los procesos inflamatorios. Es una globulina que gracias al polisacárido C de los neumococos da lugar a un precipitado. La proteína C está asociada a la fosfocolina en microbios. Se cree que su función en ellos es ayudar en la unión de las células dañadas a los macrófagos, facilitando así la fagocitosis.

También se cree que la PCR juega un papel importante en la inmunidad innata, como un primer sistema de defensa frente a infecciones (24).

Sus valores fisiológicos suelen ser menores de 10mg/L. El médico también puede realizar un examen de elevada sensibilidad, denominado Examen de Alta Sensibilidad PCR, para determinar el riesgo de posibles cardiopatías en el paciente (24).

Estos valores pueden verse aumentados en casos de:

- Artritis aguda reumatoide
- Fiebre reumática
- Infecciones bacterianas
- Cáncer (24)

4.3.3. Factor Reumatoide (FR)

El factor reumatoide se constituye de una serie de anticuerpos que reaccionan contra los epítopes de la fracción Fc de las inmunoglobulinas, estos anticuerpos pueden ser de inmunoglobulinas M, G, A y E aunque sean

específicos para artritis reumatoide también se puede encontrar en personas que tienen infecciones parasitarias, endocarditis y tuberculosis (25).

Los valores normales de factor reumatoide en técnicas de aglutinación de látex son de <8 UI/ml y ayuda al diagnóstico de artritis reumatoide en 70% (25).

Un resultado anormal significa que el examen es positivo, lo cual quiere decir que se han detectado niveles más altos del factor reumatoide en la sangre (25).

- Cuanto más alto sea el nivel, mayor será la probabilidad de que se presente una de estas afecciones.
- No toda persona con niveles más altos de factor reumatoide tiene artritis reumatoidea (25).

Los resultados de las pruebas serológicas son fáciles de realizar a través del método semicuantitativo que permite la visibilidad de la unión del antígeno y anticuerpo (26).

4.4. MÉTODO SEMICUANTITATIVO

En el método semicuantitativo, se define el título como la dilución mayor que da resultado positivo. Mediante diluciones de la muestra de acuerdo a lo que especifique la técnica a utilizar (27).

4.4.1. Método de aglutinación en látex

Las moléculas de anticuerpo pueden unirse a la superficie de partículas de látex (poliestireno), con una distribución al azar. Dado que el número de moléculas de anticuerpos unidas a cada partícula de látex es muy grande, también lo es el número posible de sitios de unión al antígeno expuestos. El antígeno presente en una muestra a probar, se une a los sitios de combinación del anticuerpo expuestos sobre las superficies de las partículas de látex y se forman agregados con enlaces cruzados de partículas de látex y antígeno. El tamaño de la partícula facilita la visualización de la reacción de

aglutinación. Se ha demostrado que la aglutinación de partículas de látex puede detectar concentraciones de polisacáridos bacterianos. (27)

Es un método de laboratorio para examinar anticuerpos o antígenos. Los anticuerpos o antígenos conocidos son unidos a partículas de látex, con el objeto de facilitar la visualización de la prueba. Se pueden emplear otras partículas insolubles como el poliestireno o la bentonita. Las partículas de látex son esferas de poliestireno que se unen fácilmente al fragmento cristizable (Fc) de moléculas de inmunoglobulina G (IgG) o inmunoglobulina M (IgM), esta última es mucho más eficiente en aglutinar partículas naturales. Los fragmentos de unión del anticuerpo quedan expuestos y son capaces de unirse al antígeno que se encuentra en la muestra. Cuando los antígenos tienen varios epítopes (o estructuras antigénicas repetitivas), los anticuerpos multivalentes acoplados a múltiples partículas de látex se unen al antígeno y se produce un entramado de las partículas de látex que dan como resultado una aglutinación visible (28).

TIPOS DE REACTIVO DE LÁTEX:

- Para detección de antígenos: son aquellas gammaglobulinas humanas o proteínas globulares que serán sometidas al suero y estas interactúan uniéndose a antígenos propias del anticuerpo (28).
- Para la detección de anticuerpos: son aquellas partículas de polietileno continuas a antígenos que al someter con el suero estas interactuaran con anticuerpos propias de los antígenos específicos (28).

4.5. CULTIVO FARÍNGEO

El cultivo faríngeo es un método que nos permite aislar microorganismos en un medio de óptimas condiciones para el crecimiento, alimentación adecuada para subsistir y permita el respectivo análisis de los microorganismos (29).

Protocolo para Cultivo Faríngeo

1. Para tomar la muestra coloque al paciente en la posición más cómoda y con la mejor iluminación

2. Hacer pronunciar la Letra A, y bajar la lengua suavemente con un baja lengua estéril.
3. Frotar el algodón del hisopo con firmeza, pero con suavidad por ambas caras de las amígdalas y luego por la pared posterior de la faringe, de manera que todo el algodón quede empapado con exudado faríngeo.
4. Evitar tocar la lengua y úvula.
5. Introduzca el hisopo en el medio de transporte hasta el fondo del tubo, parta la porción de madera del hisopo que queda por fuera y deje el resto en el tubo. Tápelolo inmediatamente, identifíquelo con el nombre del paciente, tipo de muestra, fecha y hora de la toma de la muestra.
6. Manténgalo en ambiente fresco (nunca en nevera). Llévelo lo antes posible al laboratorio (30).
7. Se realiza el sembrado de la muestra en agar sangre, se incuba a 35-37° durante 18 a 24 horas.
8. Realizar la tinción de Gram y observar cocos gram positivos en cadenas.
9. Luego efectuar la prueba de catalasa, si esta es negativa se sospecha de estreptococo del grupo A para la confirmación se coloca el disco de Bacitracina; si existe un halo de inhibición el resultado es positivo para estreptococo pyogenes.
10. Este resultado se puede confirmar con pruebas serológicas (31).

4.6. MEDIOS DE CULTIVO

Un material nutritivo para el crecimiento de microorganismos en un laboratorio se denomina medio de cultivo. Algunas bacterias pueden crecer bien en cualquier medio de cultivo, otros requieren medios especiales y otros no pueden crecer en ningún de los medios inertes (32).

4.6.1. Clasificación

Según su origen:

a) **NATURALES:** son los preparados a partir de sustancias naturales de origen animal o vegetal como ser extractos de tejidos o infusiones y cuya composición química no se conoce exactamente (33).

b) **SINTÉTICOS**: son los medios que contienen una composición química definida cualitativa y cuantitativamente. Se utilizan para obtener resultados reproducibles (33).

c) **SEMISINTÉTICOS** son los sintéticos a los que se les añaden factores de crecimiento bajo una forma de un extracto orgánico complejo, como por ejemplo extracto de levadura (33).

Según su consistencia

a) **LÍQUIDOS**: se denominan caldos y contienen los nutrientes en solución acuosa (33).

b) **SÓLIDOS**: se preparan añadiendo un agar a un medio líquido (caldo) a razón de 15g/litro. El agar es una sustancia inerte polisacárida (hidrato de carbono) que se extrae de las algas. Como esta sustancia no es digerida por las bacterias no constituye ningún elemento nutritivo. Este conjunto convenientemente esterilizado puede ser vertido en placas de Petri o en tubos de ensayo y presentan la posibilidad de aislar y diferenciar bacterias (33).

c) **SEMISÓLIDOS**: contienen 7,5 g de agar /litro de caldo. Se utilizan para determinar la motilidad de las especies en estudio. Actualmente se encuentran disponibles comercialmente con el agregado de agar (33).

Según su composición:

A causa de los requerimientos químicos del mundo microbiano, a veces es necesario agregar o eliminar componentes químicos del medio (33).

a) **COMUNES O UNIVERSALES**: su finalidad es el crecimiento de la mayor parte de los microorganismos poco existentes. Es el medio más frecuentemente utilizado para mantener colonias microbianas (33).

b) **ENRIQUECIDOS**: están compuestos de un medio base como apoyo del crecimiento al cual se le puede agregar un gran exceso de nutrientes como suplementos nutritivos, por ejemplo: sangre, suero, líquido ascítico, etc. Se utiliza para microorganismos que tienen grandes exigencias nutricionales (33).

c) **SELECTIVOS**: son sólidos en los que la selectividad se consigue alterando las condiciones físicas del medio o añadiendo o suprimiendo componentes químicos específicos con el fin de inhibir el crecimiento de especies químicas cuyo crecimiento no interesa. Este tipo de medio sólo permite el crecimiento de un grupo de microorganismos e inhibiendo el de otros. Se utiliza para seleccionar y aislar microorganismos a partir de poblaciones mixtas (33).

d) **DIFERENCIALES**: son medios de cultivos que nos permiten distinguir entre varios géneros y especies de microorganismos (33).

e) **DE ENRIQUECIMIENTO**: son medios líquidos que contienen un agente que inhibe las especies no deseadas pero que favorece el crecimiento irrestricto del agente infeccioso (33).

f) **DE TRANSPORTE**: son utilizados para asegurar la viabilidad de la bacteria sin multiplicación significativa de los microorganismos desde el momento de su extracción hasta su posterior estudio (33).

4.6.2. Medios utilizados para estreptococos

Agar sangre

Es un medio enriquecido que se utiliza además para la investigación de los diversos tipos de hemólisis. Se utiliza para el crecimiento de estreptococos. Para la preparación del agar sangre se puede utilizar el agar nutritivo enriquecido con cloruro sódico o un preparado enriquecido con otras sustancias como Columbia o el tripticase de soja. La adición de sangre a un medio de cultivo no proporciona las sustancias que están en el interior de los hematíes, pero sí puede añadir factores inhibidores del crecimiento bacteriano presentes en el suero. Este es un inconveniente que puede solucionarse calentando la sangre para romper los eritrocitos y para que se destruyan las sustancias inhibidoras, que son termolábiles. La sangre utilizada como aditivo a estos medios suele ser sangre de carnero diluida al 5%, pero en algunas ocasiones es necesario utilizar sangre de otras especies (caballo, conejo, humana), pues facilitan las reacciones hemolíticas o contienen determinados factores de enriquecimiento o no poseen sustancias inhibidoras del crecimiento de determinados gérmenes (34).

Agar tripticase de soja

Es un medio utilizado para el crecimiento de gérmenes exigentes, como Brucella, Neisseria o Streptococcus. Es un medio muy enriquecido, pero no es diferencial. Caldo tioglicolato con resazurina: Es un medio recomendado para controles de esterilidad. Permite el cultivo de aerobios, anaerobios y microaerófilos. Tiene un bajo potencial redox que, al aumentar, se manifiesta por un color rosa del medio (34).

Caldo Todd Hewitt

Medio de cultivo que permite el desarrollo de bacterias de rápido crecimiento y nutricionalmente exigentes a partir de diversas muestras. Es especialmente utilizado para el cultivo de estreptococos beta hemolítico antes de su tipificación serológica. Con el agregado de antimicrobianos es recomendado por el CDC para el enriquecimiento selectivo del Estreptococo Grupo B en partir de muestras de tracto genital femenino (31).

5. METODOLOGÍA

5.1. TIPO DE ESTUDIO

Descriptivo y de corte transversal.

5.2. UNIVERSO

80 Adultos mayores residentes del Barrio Obrapía pertenecientes a la parroquia Sucre de la ciudad de Loja.

5.3. MUESTRA

66 Adultos mayores que reciben atención en el Subcentro de Salud del Barrio Obrapía y que aceptaron participar en el presente estudio.

5.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Para que sean parte del estudio, se tomó en cuenta:

- Adultos mayores que firmen el consentimiento informado
- Adultos mayores que reciban atención en el Subcentro de Salud del Barrio Obrapía

5.5. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes Adultos mayores que al momento de la toma de muestra se encontraban recibiendo tratamiento para infecciones respiratorias.
- Pacientes que estén tomando antibióticos para otras patologías.

5.6. PROCEDIMIENTOS, TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

5.6.1. FASE PRE-ANALÍTICA:

- Oficio a la directora del Subcentro de Salud de Obrapía para solicitar autorice el permiso correspondiente para la realización del estudio. **(Anexo 1)**
- Oficio dirigido a la Jefe del Laboratorio de Microbiología Clínico San Pablo, Dra. Elizabeth Betancourt, para realizar los análisis respectivos de las muestras de secreción faríngea y sangre. **(Anexo 2)**
- Obtención del Consentimiento informado a los pacientes que participaron de la investigación. **(Anexo 3)**

- Instructivo de toma de muestras de secreción faríngea y sangre. **(Anexo 4)**
- Instructivo para la preparación del paciente **(Anexo 5)**

5.6.2. FASE ANALÍTICA:

Se desarrolló el análisis de muestras en el laboratorio de Microbiología y Clínico San Pablo, en donde:

- Se realizó el cultivo faríngeo en donde se sembraron las muestras en medio de cultivo agar sangre a través de un hisopo estéril, seguidamente se incubó a 37°C durante 24 horas.
- Después de haber transcurrido las 24 horas se observó el crecimiento de colonias y se realizó la prueba de identificación de Gram; en donde se observó a través del microscopio cocos Gram positivos en cadenas.
- Seguidamente se realizó la prueba de catalasa los cuales resultaron negativos.
- Posteriormente en el medio agar sangre se colocó un disco de Bacitracina por 24 horas y se observó un halo de inhibición confirmando ser positivo para estreptococo pyogenes.
- A los pacientes con cultivo faríngeo positivo para estreptococos pyogenes se les realizó las pruebas de ASTO, FR y PCR **(Anexo 6)**.
- Para el análisis de Antiestreptolisina O (ASTO) se realizó mediante el método cualitativo-semicuantitativo donde se colocó 50ul de muestra con 50ul de reactivo de ASTO, se mezcló y se procedió a agitar durante 2 minutos **(Anexo 7)**.
- Seguidamente para la prueba de Factor reumatoide (FR) se colocó 50ul de muestra con 50ul de reactivo de FR en los respectivos círculos de reacción, se mezcló y se procedió a agitar durante 2 minutos y se observó la existencia de aglutinación **(Anexo 8)**.
- Finalmente se realizó la prueba de Proteína C Reactiva (PCR), se colocó 50ul de muestra con 50ul de reactivo de PCR, se procedió a agitar durante 2 minutos, y se observó la existencia de aglutinación **(Anexo 9)**

5.6.3. FASE POST ANALÍTICA

- Se elaboró hoja de registros interno de datos del paciente (**Anexo 10**)
- Reporte de resultados (**Anexo 11**).
- Se elaboró un tríptico con información sobre la investigación que conjuntamente con los resultados fue entregado a los pacientes y médico del Subcentro de salud de Obrapía para su evaluación. (**Anexo 12**)

5.7. PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

Para el análisis estadístico y la tabulación se empleó tablas y gráficas en columnas: ya que a través del mismo ayuda a la recolección, análisis e interpretación de datos de una muestra representativa. Los resultados recopilados de los adultos mayores fueron ingresados en Excel para su interpretación donde me permitió realizar la determinación de comparaciones con los parámetros de análisis.

6. RESULTADOS

6.1. Resultados para el primer objetivo: Identificar la presencia de estreptococo pyogenes en secreciones faríngeas de adultos mayores mediante cultivo.

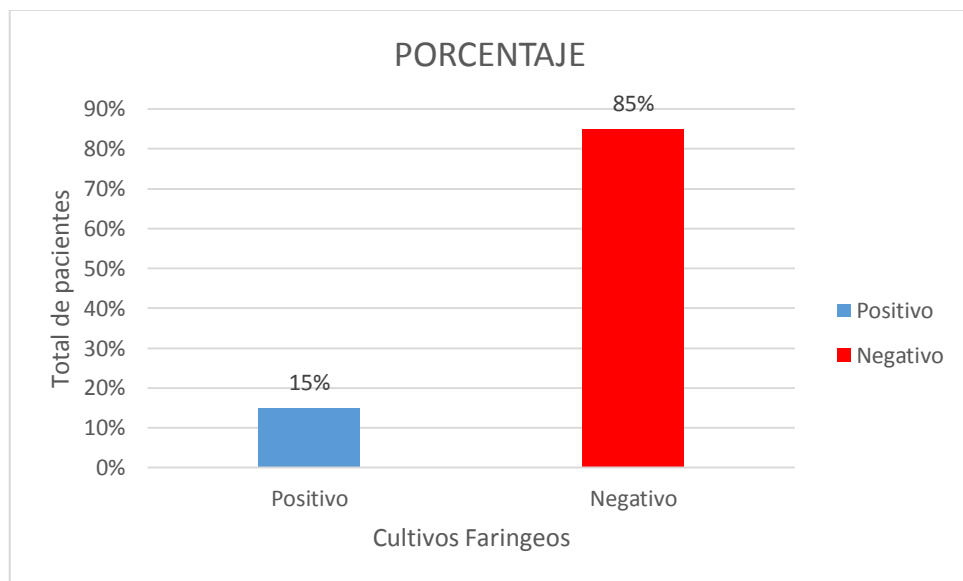
6.1. Cuadro 1: Presencia de estreptococo pyogenes en secreciones faríngeas de adultos mayores del Barrio Obrapía.

CULTIVOS FARINGEOS	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Cultivo Faríngeo Positivo	10	15%
Cultivo Faríngeo Negativo	56	85%
Total	66	100%

Fuente: Registro de análisis de resultados obtenidos en la investigación

Elaborado por: Rubén Darío Cuenca Flores

Figura N° 1: Identificar la presencia de estreptococo pyogenes en secreciones faríngeas de adultos mayores mediante cultivo.



Fuente: Registro de análisis de resultados obtenidos en la investigación

Elaborado por: Rubén Darío Cuenca Flores

Interpretación de resultados: En el presente cuadro observamos que de 66 cultivos realizados 10 resultaron positivos para *Streptococo pyogenes* que representan a un 15%.

6.2. Resultados para el segundo Objetivo: Determinación de Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y Antiestreptolisina O (ASTO), mediante técnica serológicas a los adultos mayores investigados con cultivo faríngeo positivo para *Streptococo pyogenes*.

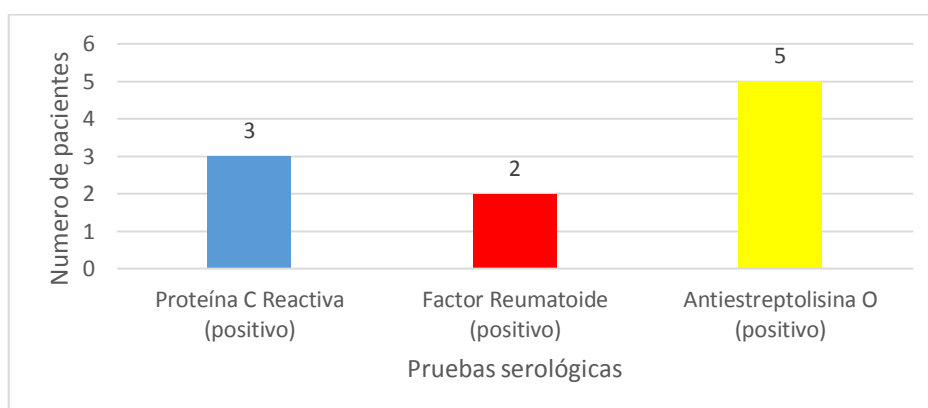
6.2. Cuadro N°2: Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y Antiestreptolisina O (ASTO) en los adultos mayores investigados con cultivo faríngeo positivo para *Streptococo pyogenes*

PRUEBAS SEROLOGICAS	
	Frecuencia
Proteína C Reactiva (positivo)	3
Factor Reumatoide (positivo)	2
Antiestreptolisina O (positivo)	5
Total	10

Fuente: Registro de análisis de resultados obtenidos en la investigación

Elaborado por: Rubén Darío Cuenca Flores

6.2 Figura N° 2: Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y Antiestreptolisina O (ASTO) en los adultos mayores investigados con cultivo faríngeo positivo para *Streptococo pyogenes*



Fuente: Registro de análisis de resultados obtenidos en la investigación

Elaborado por: Rubén Darío Cuenca Flores

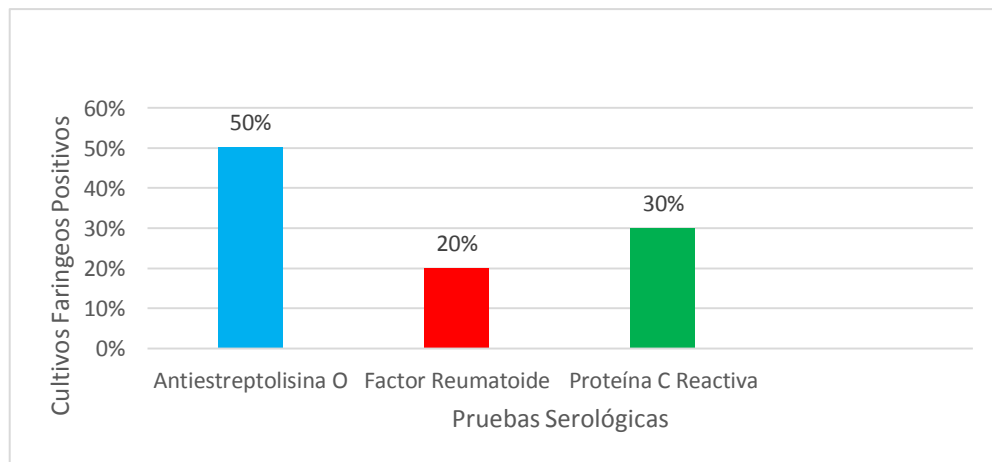
Interpretación de resultados: observamos que de los 10 cultivos faríngeos positivos para *Streptococo pyogenes* resultaron 3 pruebas positivas para Proteína C Reactiva, 2 pruebas positivas para Factor Reumatoide y 5 pruebas positivas para Antiestreptolisina O.

6.3. Resultados para el tercer Objetivo: Relacionar las pruebas serológicas de Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y Antiestreptolisina O (ASTO) frente a los cultivos faríngeos positivos para *Streptococo pyogenes*.

6.3 Cuadro N°3: Relación de las pruebas serológicas de Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y Antiestreptolisina O (ASTO) frente a los cultivos faríngeos.

PRUEBAS SEROLOGICAS									
CULTIVO FARINGEO POSITIVO	Antiestreptolisina O		Factor Reumatoide		Proteína C Reactiva		TOTAL CULTIVO FARINGEO		
	F	%	F	%	F	%	F	%	
	5	50%	2	20%	3	30%	10	100%	

5.3 Figura N° 3: Relación de las pruebas serológicas de Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y Antiestreptolisina O (ASTO) frente a los cultivos faríngeos



Fuente: Registro de análisis de resultados obtenidos en la investigación
Elaborado por: Rubén Darío Cuenca Flores

Interpretación de resultados: de los 10 cultivos faríngeos positivos tiene relación en un 50% con la prueba de antiestreptolisina O, así mismo la prueba

de Proteína C Reactiva tiene relación directa en un 30% y el Factor Reumatoide se observa relación directa en un 20%.

6.4 Resultado para el cuarto objetivo: Difundir los resultados obtenidos en la investigación mediante la elaboración de un tríptico con la información pertinente.

Con los resultados obtenidos de la presente investigación realizada en el Barrio Obrapía, se elaboró un tríptico en el constan los resultados, así como la importancia de las enfermedades reumatoideas, el valor que tienen las pruebas serológicas y el cultivo faríngeo para el diagnóstico de estas enfermedades.
(Anexo 12)

7. DISCUSIÓN

Las enfermedades reumáticas constituyen una causa importante de morbilidad en la población general. Son más de doscientos padecimientos que provocan dolor, discapacidad y deformidad. En general, estas enfermedades no aumentan la mortalidad a corto plazo, sin embargo, se reconoce cada vez más su influencia en el deterioro de la calidad de vida (35).

En la Región Sur del Ecuador no se han encontrado estudios documentados de enfermedad reumática en el Adulto mayor, por tal motivo surgió la importancia de realizar la presente investigación; con la finalidad de aportar datos reales y referenciales para así contribuir a un diagnóstico y tratamiento oportuno de dichas enfermedades; el estudio se realizó a 66 Adultos mayores, en donde se obtuvieron los siguientes resultados: el 15% correspondientes a 10 pacientes resultaron con cultivos positivos para estreptococo betahemolítico del Grupo A (*Streptococcus pyogenes*), mientras al realizar las pruebas serológicas a los pacientes que tuvieron cultivo faríngeo positivo, dio como resultado que 50% pacientes tienen ASTO positivo, 20% pacientes tienen FR positivo y 30% pacientes tienen PCR positivo.

Según un estudio realizado entre los meses de mayo 2008 a febrero del 2009 del Hospital "Roberto Gilbert" de la ciudad de Guayaquil-Ecuador, se analizó 46 muestras de exudado faríngeo en donde se obtuvo que un 54% (25) dio positivo para **Estreptococo β -hemolítico** en cultivo faríngeo, mientras al realizar las pruebas serológicas a los pacientes con cultivo faríngeo positivo, dio como resultado que el 20% (9) personas tienen PCR positivo, 6% (3) personas tienen ASTO positivo y negativo para FR. Al comparar con el estudio antes descrito se relaciona debido a que se encuentra la presencia del microorganismo en los cultivos faríngeos positivos, y difiere en que no hubo presencia de casos positivos de Factor Reumatoide. (36)

En otro estudio realizado en la Clínica de Fracturas, Colombia – Barranquilla; se realizó el análisis de ASTO, PCR y FR a 10 pacientes con cultivos positivos para **Estreptococo β -hemolítico** del grupo A, en donde 30% (3) personas obtuvieron PCR positivo, 30% (3) personas con ASTO positivo y negativo para

FR. (37) Al comparar con el presente estudio se relaciona con la cantidad de cultivos faríngeos positivos, y gran similitud con la prueba de Proteína C Reactiva con el 30% de casos positivos.

En otro estudio realizado en el departamento de Microbiología del Laboratorio San Roque en Asunción-Paraguay, entre junio de 2006 a junio de 2007, (38) se estableció la frecuencia de *Streptococo β-hemolítico* en 303 hisopados faríngeos de adultos con faringitis; de los cuales un 57% (175) resultaron positivos para estreptococo beta hemolítico en adultos. Al comparar con el presente estudio se puede evidenciar que difieren ya que solo existe el 15% de casos positivos que corresponden a 10 pacientes.

Según otro estudio realizado en Cuba en el Instituto Finlay y Hospital Clínico Quirúrgico “Joaquín Albarrán” en 112 individuos con edades entre 15-60 años; se determinó que un 8% presentan *Streptococo β-hemolítico* en cultivos faríngeos. Al comparar con el presente estudio el porcentaje de los cultivos faríngeos positivos para estreptococo β-hemolítico existe similitud ya que es de un 15% realizado en 66 pacientes (39).

En la ciudad de Guayaquil se tomó a 115 pacientes para realizar el estudio de cómo se desarrolla el *Streptococo Beta Hemolítico* del grupo A en cual resultaron afectados el 9% que corresponden a 11 pacientes infectados existiendo con mayor frecuencia en mujeres (40). Al contrastar estos datos con los resultados se observa similitud con el porcentaje obtenido en la investigación.

8. CONCLUSIONES

1. Se identificó que de los 66 adultos mayores investigados, 10 dieron positivo para *estreptococo pyogenes* al realizar el cultivo faríngeo que corresponden al 15%.
2. Se determinó Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y Antiestreptolisina O (ASTO) mediante pruebas serológicas, obteniendo 5 pruebas positivas para Antiestreptolisina O (ASTO), 3 para Proteína C Reactiva (PCR) y 2 para Factor Reumatoide (FR).
3. De acuerdo a los resultados obtenidos se observó que existe relación entre las pruebas serológicas con el cultivo faríngeo positivo dando como resultado que la prueba de Antiestreptolisina O tiene relación del 50% con el cultivo faríngeo, un 20% para la prueba de Proteína C reactiva y un 30% de relación con la prueba del Factor Reumatoide.
4. Se dio a conocer los resultados de la investigación al personal del Subcentro de salud del barrio Obrapía y adultos mayores, y la importancia que tienen las pruebas realizadas para ayuda diagnóstica de enfermedades reumatoideas

9. RECOMENDACIONES

- A los estudiantes de la carrera de Laboratorio Clínico que en lo posterior sigan realizando estudios sobre la determinación de estreptococo pyogenes en la población de adultos mayores.
- Realizar un trabajo integrado con el apoyo Interinstitucional del Ministerio de Salud Pública y Universidad Nacional de Loja, Carrera de Laboratorio Clínico con el fin de obtener datos epidemiológicos que ayuden a tomar medidas de prevención sobre esta bacteria.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Sánchez M., Albo M., Árbol F., Casallo S., y Valle P. Importancia de la proteína C reactiva como marcador de progresión en la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. España-Madrid. [Internet]. 2007. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992007000400013.
2. Linda J Vorvick. Título de Antiestreptolisina O. Department of Family Medicine, University of Washington. [Internet]. 2014. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003522.htm>.
3. Bailey & Scott. Bacterias. Diagnóstico Microbiológico, 12ava edición. Houston. Editorial Panamericana. 2009. Capítulo 54. Pág. 814-816.
4. Rivera Maribel. Estreptococo Beta Hemolítico grupo A. [Internet]. Disponible en: <http://www.bvs.hn/RHP/pdf/1998/pdf/Vol19-2-1998-7.pdf>.
5. Gobernado M. Tratamiento antibiótico de las infecciones del tracto respiratorio del adulto. [Internet]. Disponible en: <http://www.infecto.edu.uy/terapeutica/guiaatb/respalt.htm>.
6. Enfermedades reumáticas no solo se controlan con medicina. Guayaquil. [Internet]. 2014 Disponible en: <http://www.ppelverdadero.com.ec/pp-saludable/item/enfermedades-reumaticas-no-solo-se-controlan-con-medicina.html>.
7. Enfermedad estreptocócica invasiva del grupo A. [Internet]. 2013. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Enfermedad_estreptoc%C3%B3cica_invasiva_de_l_grupo_A.
8. García J., Picazo J., y Prieto J. Documento de consenso sobre tratamiento antimicrobiano de la faringoamigdalitis. España. [Internet]. Disponible en: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/16/1/74.pdf>.
9. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica. 25a edición. McGraw Hill. México. 2011. Pág.201.
10. Lazaro K., León L., Lever K., Luz X., Maestre A., Martinez S., Medina M. El Laboratorio de las Enfermedades Reumáticas. Universidad Libre. Colombia.

- [Internet]. 2012. Disponible en: <http://www.slideshare.net/DOSIIM92/el-laboratorio-de-las-enfermedades-reumaticas-11965942?nomobile=true>.
11. Análisis de las Enfermedades Reumáticas. [Internet]. 2012 Disponible en: http://perso.wanadoo.es/sergioram1/enfermedades_reumaticas.htm.
 12. Racchumi M. Género Streptococcus. Microbiología Médica. [Internet]. Disponible en: <http://microbiologiamedica.jimdo.com/bacteriolog%C3%ADa/cocos-grampositivos/g%C3%A9nero-streptococcus/>.
 13. Aracil B. y Alós J. Streptococcus pyogenes resistente a los macrólidos. Servicio de Microbiología. España-Madrid. [Internet] Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/fenotipo.pdf>.
 14. Fox A. Bacteriología: Capítulo doce Estreptococos. México. [Internet] Disponible en: <http://www.microbiologybook.org/Spanish/chapter12.htm>.
 15. Sanhueza L., Jara P., Espinoza M. Streptococcus pyogenes. [Internet]. 2006. Disponible en: <http://streptococcuspyogenes.blogspot.com/>.
 16. Klein J. Faringitis estreptocócica. [Internet]. 2009. Disponible en: http://kidshealth.org/parent/en_espanol/infecciones/strep_throat_esp.html.
 17. Tango I. Fiebre Reumática. [Internet]. 2012. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003940.htm>.
 18. Woods M. Fiebre Reumática. Estados Unidos. [Internet]. 2013. Disponible en: <http://www.med.nyu.edu/content?ChunkIID=103508>.
 19. Nava A., Riebeling C., y Pineda C. Retos para el Diagnóstico y tratamiento de la artritis reumatoide en América latina: Aproximación a la realidad Latinoamericana. Edición Uninorte. Colombia. Pág 222.
 20. Chans E. Antiestreptolisinas O. 2011. [Internet]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/50553864/ANTIESTREPTOLISINAS-O#scribd>
 21. Zepeda C. Interpretación del examen por Antiestreptolisina O. [Internet]. Disponible en: <http://www.bvs.hn/RHP/pdf/1977/pdf/Vol6-5-1977-7.pdf>
 22. Mejía G., Ramelli M. Interpretación Clínica del Laboratorio. Séptima Edición. Panamericana. Bogotá. 2006. pag 85 [Internet]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=Nt3Kmf7ED9gC&printsec=frontcover>

- &dq=valores+normales+de+antiestreptolisina+o+pdf&hl=es&sa=X&ei=5wisVMTSAZGayQSEt4LwBw&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false
23. Parham P. Inmunología. Segunda Edición. Panamericana. España. 2005. [Internet]. Disponible en:
https://books.google.com.ec/books?id=IX3Sqib_1ooC&pg=PA269&dq=proteina+c+reactiva&hl=es&sa=X&ei=ew6sVKwRka3JBL3RgaAP&ved=0CB0Q6AEwAA#v=onepage&q=proteina%20c%20reactiva&f=false
24. Proteína C Reactivo o PCR. [Internet]. Disponible en:
http://wiki.fisiologia.me/images/5/57/PROTE%C3%8DNA_c_reactiva.pdf
25. Bestene J. Factor Reumatoide. Introducción a la Clínica. Ed. Javeriano. Colombia-Bogotá. 2003. Pág. 415-416.
26. Andrade F. Factor Reumatoideo (FR). Ed. ADAM. 2013. [Internet]. Disponible en:
<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003548.htm>.
27. Forbes, B. "Diagnostico Microbiológico". 12ª ed. Editorial Panamericana 2009, Madrid –España. Capítulo 9, Pág. 148-152.
28. Macavilca M. "Inmunología Especial"; Perú, 2010; (Citado: 24/02/14); [Internet] Disponible en:
<http://es.scribd.com/doc/43927196/AGLUTINACION>.
29. Durani Y. Cultivo de Exudado Faríngeo: Frotis faríngeo. 2012. [Internet]. Disponible en:
http://kidshealth.org/parent/en_espanol/medicos/labtest11_esp.html
30. Ministerio de Salud. Guía para la toma, conservación y envío de las muestras clínicas. Gobierno Bolivariano de Venezuela. [Internet]. 2012. Disponible en: <file:///D:/Downloads/GuiaParaMuestrasClinicas.pdf>.
31. Álvarez M, Boquet E, Fez I. Manual de Técnicas en Microbiología Clínica. 1ra edición, editorial GRAFICART, 1996 pág.174-175.
32. Gerard J. Tortora B. Introducción a la Microbiología. Medios de Cultivo. 9ª Ed. Editorial Panamericana. España-Madrid. 2007 Pág. 168.
33. López T., Torres C. Medios de Cultivo. Universidad Nacional de Nordeste Argentina. [Internet]. 2006. Disponible en:
<http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp4.pdf>.

- 34.** Casado M., Torrico G., Medina M. Medios de cultivo en un laboratorio de Microbiología clínica. [Internet]. 2012. Disponible en: <https://libroslaboratorio.files.wordpress.com/2012/09/medios-de-cultivo-en-un-laboratorio-de-microbiologc3ada.pdf>.
- 35.** Cardiel M. Reumatología Clínica. Elsevier. México. 2011. [Internet]. Disponible en: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=90027167&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=273&ty=113&accion=L&origen=reuma&web=www.reumatologiaclinica.org&lan=es&fichero=273v07n05a90027167pdf001.pdf
- 36.** Mejía M., Ponce D., Zambrano G. Sensibilidad y Especificidad de las pruebas de laboratorio: Proteína C reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR), Antiestreptolisina O (ASTO) asociados a Criterios de Jonesen Exudado Faríngeo Positivo para el diagnóstico de Fiebre Reumática. Ecuador. 2009. [Internet]. Disponible en: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/123456789/606/1/T-UCSG-PRE-MED-42.pdf>
- 37.** Iglesias A., Paez O., Fals E., Blanco A., Urina M. Fiebre Reumática del Adulto. Colombia- Barranquilla [Internet]. Disponible en: https://www.google.com.ec/?gfe_rd=cr&ei=QmbBVM_QAobB8gfW2YDwDg&gws_rd=ssl#q=clinica+de+fracturas
- 38.** Carpinelli L., Fariña N., Figueredo L., Laspina F. y Sanabria R. Frecuencia de serogrupos de estreptococos beta-hemolíticos en hisopados faríngeos de pacientes con faringitis. Scielo. Paraguay. 2008. [Internet]. Disponible en: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?pid=S1812-95282008000100003&script=sci_arttext&tlng=es
- 39.** White V., Motas I., Fuentes Y., Valdés M. Y Pérez L. Colonización de bacterias potencialmente patógenas en la faringe de adultos sanos y factores de riesgos asociados. Instituto Finlay y Hospital Clínico Quirúrgico “Joaquín Albarrán”. Cuba. 2011. [Internet]. Disponible en: http://www.panorama.sld.cu/pdf/v7_no1/articulos_originales/colonizacion_d_bacterias.pdf

- 40.** Argudo I. Detección del Estreptococo Beta Hemolítico para el Diagnóstico precoz de la Fiebre Reumática. Universidad de Guayaquil. Ecuador. 2001. [Internet]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/701/1/Tesis%20-%20Isabel%20Argudo%20Escobar.PDF>
- 41.** Landam C. Manual de técnicas de toma de muestras para exámenes de laboratorio. Universidad de Valparaíso. Chile. [Internet]. 2005. Disponible en: http://prontus.uv.cl/pubacademica/pubprofesores/l/publandmancecilia/site/artic/20070119/asocfile/manual_exs.pdf.
- 42.** Hernández R., Jaramillo B., Torrealba M., Yépez J. Recomendaciones al paciente. Venezuela. [Internet]. 2012. Disponible en: <http://es.slideshare.net/barbarajaramillo/recomendaciones-al-paciente-antes-de-realizarse-analisis-clnicos>

11. ANEXOS

Anexo I.

Loja 17 de Abril del 2014

Dra.

Roció Villavicencio

DIRECTORA DEL SUBCENTRO DE SALUD DE OBRAPIA.

Presente.

De mi consideración

Yo, Rubén Darío Cuenca Flores con C.I N° 1104893662 estudiante del VIII Módulo de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, mediante la presente me dirijo a usted muy respetuosamente para desearle éxitos en sus actividades cotidianas y a la vez solicitarle su autorización para lograr realizar mi proyecto de tesis en la población de Adultos Mayores del Barrio Obrapia con el fin de llevar a cabo el tema: **"DETERMINACION DE PROTEINA C REACTIVA (PCR), FACTOR REUMATOIDE (FR) Y ANTIESTREPTOLISINA O (ASTO) EN SECRECIONES FARINGEAS POSITIVAS EN ENFERMEDAD REUMATOIDEA DE LOS ADULTOS MAYORES DEL BARRIO OBRAPIA."** En el período Abril del 21 al 25 del presente año.

Segura de que la presente sea atendida de forma favorable, le anticipo mis sinceros agradecimientos.

Atentamente,



Rubén Darío Cuenca Flores.
ESTUDIANTE



Dra. Elizabeth Betancourth
DIRECTORA DE TESIS

ANEXO II.

LABORATORIO DE
MICROBIOLOGIA
Y CLINICO SAN PABLO

Loja, 28 de Abril de 2014

Dra. Elizabeth Betancourth


RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y CLÍNICO SAN PABLO

CERTIFICO:

Que la Sr. RUBEN DARIO CUENCA FLORES con C.I. 1104893662, realizó en el Laboratorio de microbiología y clínico San Pablo la toma y procesamiento de 66 muestras correspondiente a la tesis denominada: "DETERMINACION DE PROTEINA C REACTIVA (PCR), FACTOR REUMATOIDE (FR) Y ANTIESTREPTOLISINA O (ASTO) EN SECRECIONES FARINGEAS POSITIVAS EN ENFERMEDAD REUMATOIDEA DE LOS ADULTOS MAYORES DEL BARRIO OBRAPIA.", durante el período correspondiente del 13 al 14 de Abril del 2014.

Es todo en cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autoriza al interesado dar uso del presente para lo que estime conveniente.

Atentamente,


LABORATORIO DE
MICROBIOLOGIA
Y CLINICO SAN PABLO
Dra. Mgs. Elizabeth Betancourt P.
MICROBIOLOGA CLINICA

Dra. Elizabeth Betancourth

RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y CLÍNICO SAN PABLO

DIRECCIÓN: ROCAFUERTE 15 - 59 Y 18 DE NOVIEMBRE

TELÉFONO: 2576-735 / 0984977134

ANEXO III:

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombres del paciente.....

Fecha de nacimiento.....

C/I.....Teléfono.....

Domicilio:.....Ocupación.....

He leído y escuchado satisfactoriamente las explicaciones sobre el estudio cuyo tema es **DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA C REACTIVA (PCR), FACTOR REUMATOIDE (FR) Y ANTIESTREPTOLISINA O (ASTO) EN SECRECIONES FARINGEAS POSITIVAS PARA ESTREPTOCOCO PYOGENES EN LOS ADULTOS MAYORES DEL BARRIO OBRAPIA**, y he tenido la oportunidad de hacer preguntas. Estoy enterado de los riesgos y beneficios potenciales de participar en este estudio y sé que puedo retirarme de él en cualquier momento.

Autorizo el uso de la información para los propósitos de la investigación.

Yo estoy de acuerdo con lo antes expuesto y consciente que se lleve a cabo la toma de muestra y uso de resultados con fines de la investigación y educativos.

Firma del paciente

ANEXO IV

INSTRUCTIVO PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE SECRECIÓN FARÍNGEA Y SANGRE

TOMA DE MUESTRA PARA CULTIVO FARÍNGEO

En general, con esta muestra se realizan cultivos, para determinar la presencia de gérmenes patógenos (estreptococos beta hemolítico)

- 1) Lávese las manos y use guantes estériles
- 2) Se acomoda al paciente sentado.
- 3) Se le abre la boca ayudado por un baja-lenguas.
- 4) Se toma la muestra con un hisopo que se introduce en la faringe, tocando sus paredes con movimientos rotatorios suaves y rápidos, para evitar estimular el reflejo nauseoso.
- 5) Se coloca el hisopo con la precaución de no topar las paredes del frasco estéril. (41)

TOMA DE MUESTRA SANGRE

- Revise la piel y las venas del paciente.
- Seleccione el sitio que le merezca mayor seguridad de éxito en la técnica y de menor riesgo para el paciente
- Al seleccionar el sitio de punción prefiera las venas del pliegue del codo por tener mejor calibre lo que permite un mejor acceso. Coloque la ligadura para facilitar esta elección, tenga la precaución de soltarla, una vez elegida la vena.
- Desinfecte un área de 5 cm de la piel del paciente, con alcohol al 70%. Fije la vena traccionando la piel que la circunda y solicite al paciente que empuñe la mano suavemente.
- Inserte la aguja con el bisel hacia arriba, puncione la vena, dirigiendo la aguja en la misma dirección en que ésta se encuentra, (puncionado primero la piel, trate de no puncionar directamente sobre la vena, puesto que la puede atravesar e impedirle tomar la muestra) y observe el reflujo de sangre.
- Retire la jeringa, deje la torunda seca en el sitio de punción, pidiéndole al paciente, dentro de lo posible, que la afirme sin afectar el brazo (41).

**ANEXO V:
INSTRUCTIVO PARA LA PREPARACIÓN DEL PACIENTE**

PARA CULTIVO FARÍNGEO

Preparación del paciente

- 1.No utilizar enjuague bucal
- 2.No utilizar antiséptico antes del examen
- 3.No tomar antibióticos.

INSTRUCCIONES GENERALES

- ❖ Evitar el estrés antes y durante de la toma de la muestra.
- ❖ No hacer ejercicio extremo 3 días antes de la toma de muestra.
- ❖ No ingerir bebidas alcohólicas antes de la toma de la muestra
- ❖ No es necesario permanecer en ayunas antes de la toma de muestras.
- ❖ No fumar antes de la toma de muestra (42).

ANEXO VI:
PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR UN CULTIVO FARÍNGEO

1. Tire la cabeza hacia atrás y abra la boca lo más grande posible.
2. Si el profesional no puede ver con claridad la parte posterior de la garganta, presionará la lengua con un palillo plano (depresor de lengua) para ver mejor.
3. Se frota un hisopo limpio de algodón contra la pared posterior de la garganta, sobre las amígdalas y sobre las áreas enrojecidas o inflamadas con el fin de recolectar una muestra.
4. La muestra tomada de la pared posterior de la garganta se coloca en un plato especial (cultivo) que permite el crecimiento de las bacterias
5. Si se sospecha demora de más de 4 horas en el sembrado deben ser colocados en medio de transporte
6. La muestra debe ser sembrada directamente en Agar Sangre se incuba a 25°C durante 24.
7. Se realiza la prueba de catalasa si esta prueba da positiva se determina que hay presencia de estreptococos y se verifica a través del gram; se observa a través del microscopio cocos en cadenas gram positivos.
8. Para determinar finalmente si se trata de streptococcus pyogenes se realiza un antibiograma con bacitracina; y se observa si hay sensibilidad es positivo para streptococcus pyogenes (31).

ANEXO VII:

ESTUCHE PRUEBAS DE LATEX ASTO

USO

El estuche para pruebas de ASTO látex sirve para la determinación cualitativa y semicuantitativa Antiestreptolisina (ASTO y anticuerpos O en muestras de suero humano).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso de diagnóstico in vitro solamente. Únicamente para uso profesional.

Advertencias para salud y seguridad

Todas las muestras de los pacientes y reactivos deben ser tratados como potencialmente infecciosos y el usuario debe utilizar guantes protectores, guantes y careta cuando la prueba este siendo realizada.

Los elementos que no sean desechables deben ser esterilizados a través de su uso mediante un método apropiado. Los elementos desechables deben ser tratados como desechos altamente peligrosos y deben ser incinerados.

Si alguno de estos materiales se derrama, estos deben ser absorbidos y destruidos como se ha explicado anteriormente.

El sitio donde se vierte debe ser esterilizado con un desinfectante o con alcohol al 70%

El producto también contiene sales buffer. Incluyendo sodio ácido, los reactivos de control contienen suero humano. El suero humano ha sido probado y encontrado VIH, VCH Y HBSAG negativos. Sin embargo el reactivo debe ser tratado como potencialmente infeccioso y con las precauciones apropiadas que deben ser tomadas cuando estén manejadas.

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

No modifique este procedimiento:

No diluya o modifique los reactivos por ningún motivo.

Permita que los reactivos y las muestras se lleven a temperatura ambiente (18 a 30°C).

Resuspenda la prueba y la células de control suavemente pero en su totalidad.

No intercambie reactivos de diferentes lotes.

CONTENIDO

El siguiente es el contenido del estuche estándar. El contenido puede variar dependiendo del formato requerido.

Reacción de látex: suficiente para 50/100 pruebas en lámina (etiqueta amarilla). El reactivo látex debe agitarse vigorosamente para asegurar su homogeneidad.

Control positivo (etiqueta roja). Este es suero humano positivo. Este reactivo es listo para usar y dará un resultado positivo cuando la prueba se haya efectuado con la prueba de látex plamatec.

Control negativo (etiqueta azul): este es el suero humano negativo.

Este reactivo es listo para usar y dará un resultado negativo cuando la prueba se haya efectuado con la prueba de látex plamatec.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacene los reactivos a temperatura de 2-8°C.

No refrigere el reactivo látex.

No utilice reactivos después de la fecha de expiración.

Deseche los reactivos si están contaminados o no muestran una actividad correcta con los controles.

MATERIALES Y EQUIPOS REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

Vidrio pequeño o tubos de pruebas en plástico/pipetas serológicas.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Utilice suero fresco obtenido por centrifugación de los tejidos sanguíneos. La muestra puede ser almacenada entre 2°C- 8 °C por 48 horas antes de realizar la prueba. Para periodos más largos de tiempo el suero debe ser congelado. El suero hemático, lipémico o contaminado debe ser desechado.

PROCEDIMIENTO

Principio:

Las partículas de látex recubiertas con estreptolisina O son aglutinadas cuando se mezclan las muestras que contienen asta. En estas infecciones donde la infección de estreptococos es aguda, los anticuerpos de la antiestreptolisina o son producidos por la presencia de los antígenos de la Antiestreptolisina o liberados por la bacteria. La información extendida y el grado de infección pueden ser obtenidos de la medida de los niveles del suero asta. Sin embargo, los niveles incrementados de asta también son asociados con fiebre reumática.

MÉTODO CUALITATIVO

1. Permite que todos los componentes estén a temperatura ambiente.
2. Suavemente agite los reactivos látex para dispersar las partículas.
3. Coloque una gota sin diluir en un círculo de la lámina utilizando las pipetas desechables provistas.
4. Añada una gota de reactivo látex junto a la gota de suero.
5. Utilizando la otra punta de la pipeta (parte ancha) mezcle el reactivo y el suero sobre el círculo.
6. Incline suavemente la lámina hacia atrás y adelante aproximadamente una vez cada 2 segundos por 2 minutos. Controles negativos y positivos deben ser incluidos regularmente.

Ambos están listos para su uso y no requieren dilución. Al final de la prueba, lave la lámina con agua destilada, y seque. Las precauciones normales de laboratorio deben mantenerse mientras se manipulan las muestras de los pacientes.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Presencia de aglutinación índice de niveles de asto en la muestra iguales o mayores a 200 UI/ml. Ausencia de aglutinación indica niveles de asto menores a 200 UI/ml.

DETERMINACIÓN SEMICUANTITATIVA.

La prueba semicuantitativa debe ser realizada en la misma forma que la prueba cualitativa, usando diluciones del suero en salina, buffer fosfato salino o glicina salina como sigue:

Dilución	1/2	1/4	1/8
Muestra	100 ul		
Salina	100 ul	100 ul	100 ul
		100 ul	100ul
Vol. Muestra diluido.	35 ul	35 ul	35ul
200 x factor de dilución	200 x 2	200 x 4	200 x 8
UI/ml	400	800	1600

Valores normales: adultos: <200 UI/ml.

RESULTADOS

El titulo esta expresado como recíproco de la mayor dilución que muestra aglutinación macroscópica ej. Si esta ocurre en la dilución 1/8 el título es 1600.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Resultados positivos indican infección estreptocócica aguda, en este caso la prueba cabe repetiré semanalmente para observar el progreso de la infección. Niveles elevados de asto ha sido encontrado en pacientes que sufren fiebre escarlatina, artritis reumatoidea aguda, amigdalitis y otras infecciones estreptocócicas, como también en portadores sanos.

PRECAUCIONES

Los reactivos y controles contienen asida de sodio 0.1% como preservativo. Evitar ingestión o contacto con la piel o mucosas. Ada donador usado en al preparación de los materiales del estuche, ha sido examinado con métodos apropiados para la FDA, para anticuerpos HIV y hepatitis B, siendo encontrados negativos. Sin embargo las precauciones normales de laboratorio deben tenerse en cuenta para el manejo de los reactivos.

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Sensibilidad analítica: 200 (50) IU /ml.

Efecto prozona: ningún efecto prozona fue de detectado hasta 1500 IU/ml.

Sensitividad diagnóstica: 98%.

Especificidad del diagnóstico: 97%.

LÍMITES DEL MÉTODO

Resultados falsos positivos pueden ser obtenidos en condiciones tales como reumatoides artritis, fiebre, amigdalitis, infecciones severas de estreptococo. Infecciones tempranas y las pruebas en niños de 6 meses a 2 años pueden causar falsos negativos.

Una determinación sencilla de asto no produce mucha información sobre el estado actual de la enfermedad.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Hemoglobina (<10 g/l), bilirrubina (< 20 mg/dl), lipemia (<10 g/l) no presenta interferencia con los resultados.

Otras sustancias no probadas pueden interferir.

NOTAS

La sensibilidad de las pruebas puede ser alterada por la temperatura.

Las demoras en los resultados de la lectura pueden generar una sobre estimación del título.

Los resultados obtenidos se comparan favorablemente con otros métodos disponibles en el mercado.

La contaminación del control, los reactivos o las muestras pueden provocar resultados falsos.

Los residuos de detergentes en las tarjetas pueden generar falsos positivos. Lave y enjagüe las tarjetas en agua destilada y déjelas secar al aire. No utilice ningún tipo de disolvente.

ANEXO VIII:

PRUEBAS PARA RA LÁTEX

ADVERTENCIA DE SALUD Y SEGURIDAD

Todas las muestras de los pacientes y reactivos deben ser tratados como potencialmente infecciosos y el usuario debe utilizar guantes protectores, careta y batas cuando la prueba este siendo realizada.

Los elementos que no sean desechables deben ser esterilizados a través de su uso mediante un método apropiado. Los elementos desechables deben ser tratados como desechos altamente peligrosos y deben ser incinerados.

Si alguno de estos materiales se derrama, estos deben ser absorbidos y destruidos como se ha explicado anteriormente.

El sitio donde se vierte debe ser esterilizado con un desinfectante o con alcohol al 70%

El producto también contiene sales buffer. Incluyendo sodio ácido, los reactivos de control contienen suero humano. El suero humano ha sido probado y encontrado VIH, VCH Y HBSAG negativos. Sin embargo el reactivo debe ser tratado como potencialmente infeccioso y con las precauciones apropiadas que debes ser tomada cuando estén manejadas.

PRECAUCIONES ANALÍTICAS

No modifique este procedimiento:

No diluya o modifique los reactivos por ningún motivo.

Permita que los reactivos y las muestras se lleven a temperatura ambiente (18 a 30°C).

No intercambie reactivos de diferentes lotes.

COMPOSICIÓN

Cada estuche contiene

Reactivo látex suficiente para 50/100

Reacción de látex: suficiente para 50/100 pruebas en lámina (etiqueta amarilla). El reactivo látex debe agitarse vigorosamente para asegurar su homogeneidad.

Control positivo (etiqueta roja). Este es suero humano RA positivo. Este reactivo es listo para usar y dará un resultado positivo cuando la prueba se haya efectuado con la prueba de RA látex.

Control negativo (etiqueta azul): este es el suero humano RA negativo.

Este reactivo es listo para usar y dará un resultado negativo cuando la prueba se haya efectuado con la prueba RA látex.

ALMACENAMIENTO Y DURABILIDAD

Almacene los reactivos entre 2-8°C.

No congele ninguno de los reactivos.

No utilice los reactivos después de la fecha de vencimiento de la etiqueta.

Deseche los reactivos si recontaminan o no muestran una correcta actividad con los controles.

MATERIALES Y EQUIPO REQUERIDO PERO NO PROVISTO.

Vidrio pequeño o tubos de pruebas en plástico/ pipetas serológicas.

Preparación de la muestra

Utilice suero fresco obtenido por centrifugación de los tejidos sanguíneos. La muestra puede ser almacenada entre 2°C-8°C por 48 horas antes de realizar la prueba. Para periodos más largos de tiempo el suero debe ser congelado. El suero hemático, lipémico o contaminado debe ser desechado.

PROCEDIMIENTO

Principio

En algunos pacientes con artritis reumatoidea, se produce una proteína anormal, esta proteína se comporta como si fuera un anticuerpo IgM dirigido contra determinantes de globulinas IgG. La determinación de la proteína factor reumatoideo, es de valor en el diagnóstico de artritis reumatoidea. Singer y Plot describieron un método para detectar el factor reumatoideo, usando una suspensión de gránulos de granos finos recubiertos con gammaglobulinas humanas que aglutinan en presencia del factor reumatoideo. El reactivo RA látex es una preparación sensible y estandarizada de este tipo; hecho con fracción humana purificada y látex polietileno.

MÉTODO CUALITATIVO

1. Lleve todos los componentes a temperatura ambiente.
2. Mezcle suavemente el reactivo de látex para dispersar partículas.
3. Ponga una gota de suero en el centro del círculo de la lámina utilizando las pipetas desechables provistas.
4. Agregue una gota de reactivo de látex cerca de la gota del suero.
5. Utilizando el otro extremo de la pipeta desechable extienda la muestra y el reactivo sobre todo el área del círculo.
6. Incline suavemente la lámina hacia atrás y adelante aproximadamente una vez cada 2 segundos por 2 minutos. Controles negativos y positivos deben ser incluidos regularmente. Ambos están listos para su uso y no requieren dilución. Al final de la prueba, lave la lámina con agua destilada, y seque. las precauciones normales de laboratorio deben mantenerse mientras se manipulan las muestras de los pacientes.

RESULTADOS

La presencia de aglutinación indica niveles RA iguales o > 8 UI/ml

Ausencia de aglutinación indica nivel de RA < 8 UI/ml.

DETERMINACIÓN SEMICUANTITATIVA

La prueba semicuantitativa, puede ser realizada en la misma forma que la prueba cualitativa usando diluciones del suero en salina, buffer fosfato o salino glicina como sigue:

Dilución	1/2	1/4	1/8	1/16
Suero	100 ul			
Buffer	100 ul	100 ul	100 ul	100 ul
		100ul	100 ul	100 ul
Volumen Muestra	50 ul	50 ul	50 ul	50 ul
8 x titulo	8 x 2	8 x 4	8 x 8	8 x 16
IU/ml	16	32	64	128

Niveles normales: adultos: < 8 UI/ml.

RESULTADOS

El titulo esta expresado como reciproco de la mayor dilución que muestra aglutinación macroscópica. Ej.: si esto ocurre en la dilución 3 el título es 8 correspondiente a una concentración de 6 UI/ml.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Presencia de aglutinación en una muestra = ≥ 8 IU/ml

En los sistemas que usan reactivos látex los resultados positivos no siempre se encuentran en todos los casos definidos clínicamente como artritis reumatoideo. El número de reportes positivos usando varios tipos de reactivos látex fluctúa del 70% al 90%. Resultados falsos positivos pueden ocurrir en

varias condiciones patológicas incluyendo lupus eritromatoso, hepatitis, cirrosis de hígado, linfomas, esclerodermia, y otras infecciones variadas. La frecuencia de resultados falsos positivos no es muy alta en condiciones pero la posibilidad debe ser tenida en cuenta cuando se interpreten resultados.

CARACTERÍSTICAS

Sensibilidad analítica: 8 (6-16 IU/ml)

Efecto prozona: ningún efecto prozona se detectó hasta 800IU/ml.

Sensibilidad de diagnóstico: 100%

Especificidad del diagnóstico: 98.8 %

LIMITACIONES DEL MÉTODO

La incidencia de los resultados falsos positivos es de 3-5% los individuos que sufren de mononucleosis infecciosa hepatitis, sífilis, así como los pacientes de edad avanzada pueden generar resultados positivos.

El diagnóstico no debe ser basado en los resultados del método látex sino que debe ser complementado con una prueba de Rosa Waaler junto con el diagnóstico médico.

Nota: los resultados obtenidos con un método látex no se comparan con los obtenidos en la prueba de Rosa Waaler. Las diferencias de los resultados y los métodos no reflejan las diferencias en la capacidad de detectar factores reumatoideos.

Hemoglobina (10 g/L), bilirrubina (20mg/dl) y lipernia (10g/L), no interfieren. Otras sustancias pueden interferir.

ANEXO IX:

Prueba PCR látex

USO

La prueba de PCR látex plasmatec sirve para la determinación cualitativa y semicuantitativa de la proteína c reactiva (PCR) en muestras de suero humano.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso In vitro únicamente

Solamente para uso profesional.

ADVERTENCIAS DE SALUD Y SEGURIDAD

Todas las muestras de los pacientes y reactivos deben ser tratados como potencialmente infecciosos y el usuario debe utilizar guantes protectores, careta y batas cuando la prueba este siendo realizada.

Los elementos que no sean desechables deben ser esterilizados a través de su uso mediante un método apropiado. Los elementos desechables deben ser tratados como desechos altamente peligrosos y deben ser incinerados.

Si alguno de estos materiales se derrama, estos deben ser absorbidos y destruidos como se ha explicado anteriormente.

El sitio donde se vierte debe ser esterilizado con un desinfectante o con alcohol al 70%

El producto también contiene sales buffer. Incluyendo sodio ácido, los reactivos de control contienen suero humano. El suero humano ha sido probado y encontrado VIH, VCH Y HBSAG negativos. Sin embargo el reactivo debe ser tratado como potencialmente infeccioso y con las precauciones apropiadas que debes ser tomada cuando estén manejadas.

PRECAUCIONES ANALÍTICAS

No modifique este procedimiento:

No diluya o modifique los reactivos por ningún motivo.

Permita que los reactivos y las muestras se lleven a temperatura ambiente (18 a 30°C).

No intercambie reactivos de diferentes lotes.

CONTENIDO

El siguiente es el contenido del estuche estándar el contenido puede variar dependiendo del formato requerido:

Reacción de látex: suficiente para 50/100 pruebas en lámina (etiqueta amarilla). El reactivo látex debe agitarse vigorosamente para asegurar su homogeneidad.

Control positivo (etiqueta roja). Este es suero humano PCR positivo. Este reactivo es listo para usar y dará un resultado positivo cuando la prueba se haya efectuado con la prueba de PCR látex.

Control negativo (etiqueta azul): este es el suero humano PCR negativo.

Este reactivo es listo para usar y dará un resultado negativo cuando la prueba se haya efectuado con la prueba PCR látex.

ALMACENAMIENTO Y DURABILIDAD

Almacene los reactivos entre 2-8°C.

No congele ninguno de los reactivos.

No utilice los reactivos después de la fecha de vencimiento de la etiqueta.

Deseche los reactivos si recontaminan o no muestran una correcta actividad con los controles.

Materiales y equipo requerido pero no provisto.

Vidrio pequeño o tubos de pruebas en plástico/ pipetas serológicas.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Utilice suero fresco obtenido por centrifugación de los tejidos sanguíneos. La muestra puede ser almacenada entre 2°C-8°C por 48 antes de realizar la prueba. Para periodos más largos de tiempo el suero debe ser congelado. El suero hemático, lipaémico o contaminado debe ser desechado.

PROCEDIMIENTO

Principio:

En presencia de proteína c reactiva (PCR) en suero de pacientes, la anti-CRP IgG unida a partículas de látex se unen por reacción inmunoquímica resultando en una aglutinación visible.

Proteína c reactiva (PCR) es un suero constituido originalmente por su habilidad al precipitar el polisacárido C del neumococo.

Característicamente la proteína c reactiva aparece en el suero de individuos en respuesta a varias condiciones inflamatorias o necrosis tisular y desaparecen como ceden las condiciones que la causan. Es de rutina encontrarla en infección bacteriana, fiebre reumática activa o algunas enfermedades malignas y es frecuentemente vista asociados en casos de artritis reumatoidea, infecciones virales y tuberculosis. La proteína c reactiva también a sido detectada en pacientes seguida una transfusión sanguínea y operaciones quirúrgicas, así como en pacientes con quemaduras.

MÉTODO CUALITATIVO

1. Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente
2. Mezclar el reactivo de látex para dispensar las partículas
3. Los controles positivo y negativo deben ser corrido para asegurar apropiado desempeño de látex. Ponga una gota de cada uno de los reactivos en el centro del círculo de reacción.
4. Ponga una gota de aproximadamente de 35 ul de suero sin diluir en el centro del área de reacción. Usando las pipetas desechables.

5. Agregue una gota de suspensión de látex bien mezclada a cada área de reacción.
6. Usando el otro extremo de la pipeta desechable mezcle el reactivo y el suero sobre el área del círculo de reacción.
7. Mezcle la lámina de reacción hacia adelante y hacia atrás cada 2 segundos por 2 minutos. Lea y apunte los resultados usando los controles negativo y positivo como referencia para la aglutinación.
8. Después de la lectura de los resultados, enjuague la lámina con desinfectante como hipoclorito de sodio. Enjuague con agua destilada y seque. Las precauciones normales del laboratorio deben mantenerse durante el manejo de las muestras de pacientes.

RESULTADOS

Positivo: aglutinación de las partículas dentro de los 2 minutos, indican niveles de CRP = o > a 6 mg/L.

Negativo: ninguna aglutinación de las partículas de látex indican niveles de CRP. Menores de 6 mg/L en la muestra

PROCEDIMIENTO SEMICUANTITATIVO

El método semicuantitativo puede ser ejecutado de la misma forma que el cualitativo usando diluciones del suero en buffer fosfato salino o glicina salina como sigue:

Disolución	1/2	1/4	1/8	1/16
Suero	100 ul			
Buffer salino	100 ul	100 ul	100 ul	100 ul
	100 ul	100 ul	100 ul	100 ul
Vol. muestra	35 ul	35 ul	35 ul	35 ul
8 x factor	8 x 2	8 x 4	8 x 8	8 x 16
Mg/dl	12	24	48	96

NIVELES NORMALES

Adultos: menor a 6mg/L

RESULTADOS

El título está expresado por mayor dilución que muestra aglutinación macroscópica.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Reacciones leídas dentro de los 2 minutos de reacción son válidas.

Niveles elevados por encima del normal de CRP indican daño tisular, inflamación o ambos con gran confiabilidad. El látex CRP ha sido estandarizado para detectar niveles de CRP hasta o sobre 6mg/dl, que es considerada la concentración mínima de significancia clínica.

El resultado obtenido por este ensayo debe ser considerado una parte del diagnóstico diferencial y de la historia clínica del paciente.

No existe relación entre la fuerza de reacción y los niveles de CRP.

La vigilancia regular de los niveles de CRP es frecuentemente usada a manera de estimación de la actividad de la enfermedad guía de terapia. La determinación de CRP es considerada de gran significación como otro indicador de enfermedad inflamatoria. La VSG por ejemplo, puede encontrarse elevada como resultado de condiciones no inflamatorias. En esas circunstancias la enfermedad inflamatoria puede excluirse si a CRP está ausente.

CARACTERÍSTICAS DEL FUNCIONAMIENTO

Sensibilidad analítica: 6 (5-10) mg/L

Efecto prozona: el efecto prozona no fue detectado hasta 1600mg/L

Sensibilidad del diagnóstico: 95.6%

Especificidad del diagnóstico: 96.2%

LIMITACIONES DEL MÉTODO

Las muestras con alta concentración de PCR pueden dar resultados negativos (efecto prozona). Ejecute la prueba nuevamente usando una muestra de 20ul.

Hemoglobina (10g/L), bilirrubina (20mg/dl), lipemia (10g/L) no interfieren. Factores reumatoideos (100 IU/ml), interfieren. Otras sustancias pueden interferir.

Los diagnósticos a clínicos no se deben interpretar como un resultado único pero deben integrar ambos datos, clínicos y de laboratorio.

ANEXO X

HOJA DE REGISTRO DE DATOS DEL PACIENTE

Responsable.....Fecha.....

N°	NOMBRE	Cod.	RESULTADOS				OBSERVACIONES
			CULTIVOS FARÍNGEOS	ASTO	PCR	FR	
		1	Negativo				
		2	Negativo				
		3	Negativo				
		4	Negativo				
		5	Negativo				
		6	Negativo				
		7	Negativo				
		8	Negativo				
		9	Negativo				

N°	NOMBRE	Cod.	RESULTADOS				OBSERVACIONES
			CULTIVOS FARÍNGEOS	ASTO	PCR	FR	
		10	Negativo				
		11	Negativo				
		12	Negativo				
		13	Negativo				
		14	Negativo				
		15	Negativo				
		16	positivo	Positivo			
		17	Negativo				
		18	Positivo		Positivo		
		19	Negativo				
		20	Negativo				
		21	Negativo				

N°	NOMBRE	Cod.	RESULTADOS				OBSERVACIONES
			CULTIVOS FARÍNGEOS	ASTO	PCR	FR	
		22	Negativo				
		23	Negativo				
		24	positivo			Positivo	
		25	Negativo				
		26	Negativo				
		27	Negativo				
		28	Negativo				
		29	positivo	Positivo			
		30	Negativo				
		31	Negativo				
		32	Negativo				
		33	Negativo				

N°	NOMBRE	Cod.	RESULTADOS				OBSERVACIONES
			CULTIVOS FARÍNGEOS	ASTO	PCR	FR	
		34	positivo	Positivo			
		35	Negativo				
		36	Negativo				
		37	Negativo				
		38	Negativo				
		39	positivo			positivo	
		40	Negativo				
		41	Negativo				
		42	Negativo				
		43	Negativo				
		44	Negativo				
		45	Negativo				
		46	positivo		Positivo		

N°	NOMBRE	Cod.	RESULTADOS				OBSERVACIONES
			CULTIVOS FARÍNGEOS	ASTO	PCR	FR	
		47	Negativo				
		48	Negativo				
		49	positivo	positivo			
		50	Negativo				
		51	Negativo				
		52	Negativo				
		53	Negativo				
		54	Negativo				
		55	Negativo				
		56	Negativo				
		57	Negativo				
		58	Negativo				
		59	Negativo				

N°	NOMBRE	Cod.	RESULTADOS				OBSERVACIONES
			CULTIVOS FARÍNGEOS	ASTO	PCR	FR	
		60	Negativo				
		61	Negativo				
		62	positivo	positivo			
		63	Negativo				
		64	Negativo				
		65	positivo		Positivo		
		66	Negativo				

ANEXO XI

FORMATO DE ENTREGA DE RESULTADOS

LABORATORIO CLINICO

Nombre del paciente

Edad

Sexo

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS

	RESULTADO	V. REFERENCIA	UNIDADES
ASTO:		< 200	UI/ml
PCR:		< 6	mg/l
FR:		< 8	UI/ml

.....

Firma del Responsable

ANEXO XII

DETERMINACION DE PROTEINA C REACTIVA (PCR), FACTOR REUMATOIDE (FR) Y ANTIESTREPTOLISINA O (ASTO) EN SECRECIONES FARINGEAS POSITIVAS EN ENFERMEDAD REUMATOIDE DE

ENFERMEDADES REUMATICAS

Las enfermedades reumáticas son aquellas dolencias que afectan las articulaciones, sin que estas dolencias sean provocadas por golpes. Estas enfermedades también pueden lesionar los huesos, las bolsas sinoviales, músculos con sus ligamentos, pulmones, corazón.

ARTRITIS REUMATOIDE

La artritis reumatoide es una enfermedad sistémica crónica de etiología, inflamatoria, crónica, de etiología desconocida, cuya expresión clínica más importante se encuentra en la inflamación articular lo que lleva progresivamente a distintos grados en invalidez



MANIFESTACIONES CLÍNICAS

El cuadro clínico clásico de la artritis reumatoide usualmente se manifiesta después de varios meses del establecimiento de la enfermedad. Por lo general se afectan las muñecas y las articulaciones de ambas manos.

FIEBRE REUMATICA

La fiebre reumática es una enfermedad inflamatoria que puede desarrollarse como complicación de un tratamiento inadecuado, por estreptococo, de garganta. La faringitis estreptocócica es causada por la infección con la bacteria estreptococos grupo A.

MANIFESTACIONES CLINICAS

Los signos y síntomas de la fiebre Reumática que resultan de la inflamación en el corazón, las articulaciones, la piel o el sistema nervioso central pueden incluir:

- Fiebre
- Pequeños nódulos indoloros debajo de la piel
- Dolor en el pecho
- Fatiga
- Dificultad para respirar
- Erupción dolorosa, plana o ligeramente elevada con un borde irregular (eritema marginado)
- Movimientos corporales incontrolables espasmódicos (baile de San Vito), con más frecuencia en las manos, los pies y la cara
- Arranques de comportamiento inusual, como la risa o el llanto inapropiado.

- Dolor en las articulaciones (con mayor frecuencia los tobillos, rodillas, codos o muñecas. Con menos frecuencia los hombros, las caderas, las manos y los pies)
- Sensación de pulso acelerado, aleteo o fuertes latidos del corazón (palpitaciones)
- Dolor en una articulación que migra a otro conjunto



Toma de muestras

PARA CULTIVO FARINGEO

Preparación del paciente

No utilizar enjuague bucal

No utilizar antiséptico antes del examen

Toma de muestra

El paciente debe inclinar la cabeza hacia atrás con la boca bien abierta.

Se frota la parte posterior de la garganta con un hisopo o aplicador de algodón cerca de las amígdalas.

Las muestras deben ser sembradas de inmediato en agar chocolate o sangre.

Se procede a incubar a 37°C y observar dentro de 48 horas.



PARA EXÁMENES DE MUESTRAS

SEROLÓGICAS

Se debe preparar para la flebotomía al paciente y evitar los mínimos errores para no influir en resoluciones de laboratorio.



INSTRUCCIONES GENERALES

Evitar el estrés antes y durante de la toma de la muestra.

No hacer ejercicio extremo antes de 3 días antes de la toma de muestra.

No ingerir bebidas alcohólicas antes de la toma de la muestra

No es necesario permanecer en ayunas antes de la toma de muestras.

No fumar antes de la toma de muestra

RESULTADOS DE LA INVESTIGACION

De los 66 adultos mayores investigados, 10 son positivos que corresponden al 15%. Al realizar las pruebas serológicas a los pacientes que tuvieron cultivo faríngeo positivo dio como resultado que 5 pacientes que presentan la prueba de Antiestreptolisina O positivo, 2 pacientes presentan la prueba de Factor Reumatoide positivo y 3 pacientes presentan la prueba de Proteína C Reactiva positivo

Gracias

ANEXO XIII EVIDENCIAS

FASE PREANALITICA

Obtención del consentimiento informado



Obtención de la muestra



Muestra faríngea



Muestra sanguínea

FASE ANALITICA

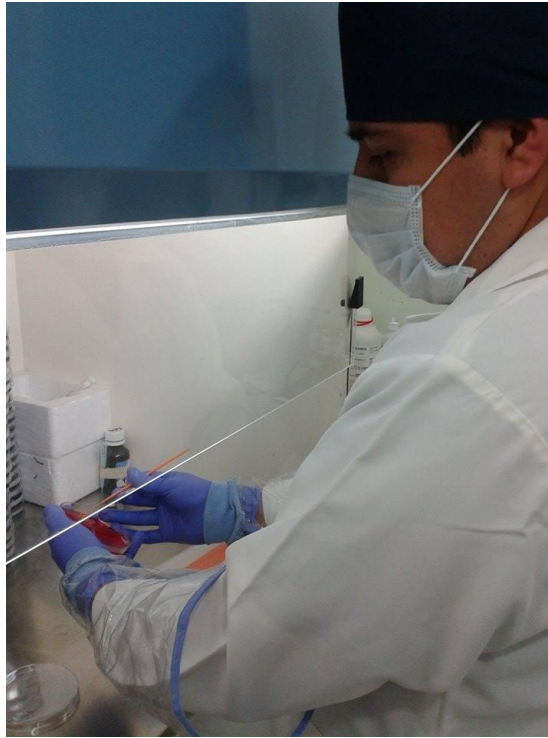
Centrifugación y obtención del suero



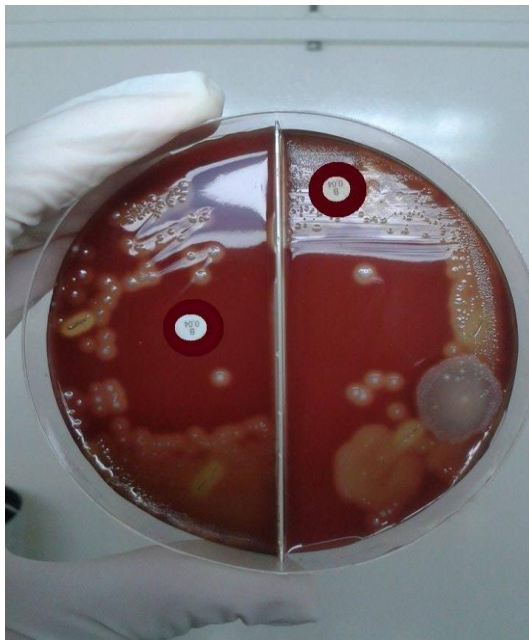
Realización de las pruebas serológicas de ASTO, FR y PCR



Aislamiento del cultivo faríngeo



FASE POSTANALITICA



Prueba de la Bacitracina

ÍNDICE

	Págs.
CARÁTULA.....	i
CERTIFICACIÓN.....	ii
AUTORÍA.....	iii
CARTA DE AUTORIZACIÓN.....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
1. TÍTULO.....	1
2. RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
3. INTRODUCCIÓN.....	4
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
4.1. Estreptococos.....	7
4.1.1. Estreptococo del grupo A: Estreptococo pyogenes.....	8
4.2. Enfermedades Estreptocócicas.....	9
4.3. Diagnóstico laboratorial.....	10
4.3.1. Antiestreptolisina O.....	10
4.3.2. Proteína C Reactiva.....	12
4.3.3. Factor Reumatoide.....	12
4.4. Método semicuantitativo.....	13
4.4.1. Método de Aglutinación en látex.....	13
4.5. Cultivo Faríngeo.....	14
4.6. Medios de Cultivo.....	15
4.6.1. Clasificación.....	15
4.6.2. Medios Utilizados para Estreptococos.....	17
5. METODOLOGÍA.....	19

5.1. Tipo de Estudio.....	19
5.2. Universo.....	19
5.3. Muestra.....	19
5.4. Criterios de Inclusión.....	19
5.5. Criterios de Exclusión.....	19
5.6. Procedimientos, Técnicas e Instrumentos.....	19
5.6.1. Fase pre analítica.....	19
5.6.2. Fase analítica.....	20
5.6.3. Fase post analítica.....	21
5.7. Plan de tabulación y análisis de datos.....	21
6. RESULTADOS.....	22
6.1. Resultado para el primer objetivo.....	22
6.2. Resultado para el segundo objetivo.....	23
6.3. Resultado para el tercer objetivo.....	24
6.4. Resultado para el cuarto objetivo.....	25
7. DISCUSIÓN.....	26
8. CONCLUSIONES.....	28
9. RECOMENDACIONES.....	29
10. BIBLIOGRAFÍA.....	30
11. ANEXOS.....	35
12. ÍNDICE.....	70

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	CONTENIDO	PÁGINA
6.1	Identificar la presencia de estreptococo pyogenes en secreciones faríngeas de adultos mayores mediante cultivo.	22
6.2	Determinación de Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y Antiestreptolisina O (ASTO), mediante técnica serológicas a los adultos mayores investigados con cultivo faríngeo positivo para <i>Streptococo pyogenes</i> .	23
6.3	Relacionar las pruebas serológicas de Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y Antiestreptolisina O (ASTO) frente a los cultivos faríngeos positivos para <i>Streptococo pyogenes</i> .	24

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	CONTENIDO	PÁGINA
6.1	Presencia de estreptococo pyogenes en secreciones faríngeas de adultos.	22
6.2	Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y Antiestreptolisina O (ASTO) en los adultos mayores investigados con cultivo faríngeo positivo para <i>Streptococo pyogenes</i>	23
6.3	Relación de las pruebas serológicas de Proteína C Reactiva (PCR), Factor Reumatoide (FR) y Antiestreptolisina O (ASTO) frente a los cultivos faríngeos	24