UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO

"CULTIVO DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* VS PRUEBA DE INMUNOENSAYO CUALITATIVA EN PACIENTES CON EXUDADO FARÍNGEO QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA"

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADO EN LABORATORIO CLÍNICO

AUTOR:

Fabián Darío Díaz Sinche

DIRECTORA:

Lic. Glenda Alfarita Rodríguez León, Mg. Sc.

LOJA-ECUADOR
2019

CERTIFICACIÓN

Lic. Glenda Alfarita Rodríguez León, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo el proceso de la elaboración del trabajo investigativo titulado: **"Cultivo de *Streptococcus pyogenes* vs prueba de inmunoensayo cualitativa en pacientes con exudado faríngeo que acuden al hospital Isidro Ayora de Loja." ,** de autoría del Sr. **Fabián Darío Díaz Sinche**, previo a la obtención del título de Licenciado en Laboratorio Clínico, ha sido desarrollada, corregida y orientada bajo mi dirección y en el marco del reglamento del régimen académico de la Universidad Nacional de Loja vigente.

Loja, 08 de enero de 2019

Atentamente:

.....

Lic. Glenda Alfarita Rodríguez León, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, **Fabián Darío Díaz Sinche** con **Cl. 1104854623** declaro ser autor del presente trabajo de investigación, 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 del presente trabajo en el Repositorio Institucional de la Biblioteca Virtual.

Autor: Fabián Darío Díaz Sinche

Firma: .....

Cédula: 1104854623

Fecha: Loja, 08 de enero de 2019

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, **Fabián Darío Díaz Sinche**, declaro ser autor de la tesis titulada **"Cultivo de *Streptococcus pyogenes* vs prueba de inmunoensayo cualitativa en pacientes con exudado faríngeo que acuden al hospital Isidro Ayora de Loja."**, 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 muestre 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, con las cuales tengan convenio la Universidad.

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

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 08 días del mes de enero del dos mil diecinueve, firma el autor.

Firma: .....

Autor: Fabián Darío Díaz Sinche

Cédula: 1104854623

Dirección: Barrio San José Bajo, calle Ramón Burneo y Bolivar Bailón

Teléfono: 0987868938

Correo electrónico: saraswinsderysooo@gmail.com

DATOS COMPLEMENTARIOS:

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

Tribunal de grado:

Presidente: Dra. Sandra Elizabeth Freire Cuesta, Esp.

Vocal: Dra. Diana Alexandra Montaño Peralta, Mg. Sc.

Vocal: Lic. Iliana Alicia Delgado, Mg, Sc.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de tesis en primer lugar a Dios, por darme el valor, sabiduría, salud, felicidad y por estar siempre iluminando mi camino para el bien; de igual manera a mis padres y hermanos por sus esmeros, consejos y su amor infinito de sacrificio, y ayuda abnegada, gracias a ello he logrado romper todas las barreras que se me han presentado por su apoyo incondicional durante todo el transcurso de mis estudios dentro de la Universidad Nacional de Loja de la carrera de Laboratorio Clínico que ha sabido encaminarme en los momentos más difíciles e inculcarme la responsabilidad y perseverancia para la realización y culminación de mi carrera.

Fabián Darío Díaz Sinche

AGRADECIMIENTO

Mi reconocimiento de gratitud a la Universidad Nacional de Loja por permitirme formar parte de tan prestigiosa institución que me ha brindado la oportunidad de poder formarme como profesional y hacer uso de los beneficios del establecimiento para mi desarrollo profesional, de igual manera a los docentes que conforman la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja quienes con sus conocimientos y experiencias contribuyeron de manera exitosa en mi formación académica.

Agradezco a mi directora de tesis Lic. Mg. Sc. Glenda Rodríguez León, quien con su gentil amabilidad supo guiarme muy acertadamente de principio a fin en cada uno de los pasos para la culminación exitosa de mi trabajo de tesis.

ÍNDICE

CARÁTULA i

CERTIFICACIÓN ii

AUTORÍA iii

CARTA DE AUTORIZACIÓN iv

DEDICATORIA v

AGRADECIMIENTO vi

ÍNDICE vii

1. TÍTULO 1

2. RESUMEN 2

ABSTRACT 3

3. INTRODUCCIÓN 4

4. REVISIÓN DE LITERATURA 9

4.1. *Streptococcus pyogenes* 9

4.2. Factores de virulencia 9

4.2.1. Factores de superficie. 9

4.2.1.1. Cápsula. 9

4.2.1.2. Ácido lipoteicoico. 10

4.2.1.3. Proteína M. 10

4.2.1.4. Factor H. 10

4.2.1.5. Proteínas símil-tipo M. 11

4.2.1.6. Proteasa C5a. 11

4.3. Factores Extracelulares 11

4.3.1. Estreptoquinasa. 12

4.3.2. Hialuronidasa. 12

4.3.3. Estreptolisina O. 12

4.3.4. Estreptolisina S. 12

4.3.5. Exotoxina pirogénica estreptocóccica. 12
4.4. Patologías 12
4.4.1. Enfermedades producidas por 12
4.4.1.1. Infecciones piógenas. 13
4.4.1.1.1. Faringitis. 13
4.4.1.1.2. Faringitis estreptocócica. 13
4.4.1.1.3. Erisipela. 14
4.4.2. Enfermedades debidas a la exotoxina pirogénica 14
4.4.2.1. Escarlatina. 14
4.4.3. Complicaciones postestreptocóccicas no supurativas. 15
4.4.3.1. Fiebre reumática aguda 15
4.4.3.2. Glomerulonefritis 15
4.5. Métodos Diagnósticos 15
4.5.1. Exudado faríngeo. 15
4.5.2. Cultivo. 16
4.5.2.1. Medio de cultivo empleado. 17
4.5.2.1.1. Agar sangre. 17
4.5.2.2. Características de un medio de cultivo para identificación de 17
4.5.2.3. Procedimiento 18
4.5.3. Tinción de Gram 19
4.5.3.1. Descripción de la tinción de Gram. 19
4.5.3.2. Procedimiento de la técnica. 20
4.5.4. Pruebas bioquímicas para identificación de *Streptococcus pyogenes* 21
4.5.4.1. Prueba de bacitracina 21
4.5.4.2. Prueba de la catalasa 22
4.5.4.3. Prueba de la Optoquina 23

4.5.5. Inmuno ensayo cualitativo inmunocromatográfico. 23

4.5.5.1. Fundamento 23

4.5.5.2. Utilidad clínica. 23

4.5.5.3. Interpretación de la prueba 24

4.6. Validación de pruebas diagnósticas 25

4.6.1. Cálculo de especificidad y sensibilidad de una prueba de cultivo y una prueba inmunocromatográfica cualitativa. 25

4.6.1.1. Sensibilidad. 25

4.6.1.2. Especificidad. 26

4.6.2. Valores Predictivos. 27

4.6.2.1. Valor predictivo positivo (VPP). 27

4.6.2.2. Valor predictivo negativo (VPN). 27

5. MATERIALES Y MÉTODOS 28

6. RESULTADOS 34

7. DISCUSIÓN 38

8. CONCLUSIONES 41

9. RECOMENDACIONES 42

10. BIBLIOGRAFÍA 43

11. ANEXOS 47

1. TÍTULO

“CULTIVO DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* VS PRUEBA DE INMUNOENSAYO CUALITATIVA EN PACIENTES CON EXUDADO FARÍNGEO QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA”

2. RESUMEN

El presente trabajo de investigación cuyo tema **"CULTIVO DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* VS PRUEBA DE INMUNOENSAYO CUALITATIVA EN PACIENTES CON EXUDADO FARÍNGEO QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA",** fue desarrollado en el hospital Isidro Ayora de la ciudad de Loja y tuvo como objetivo permitir un análisis comparativo entre la prueba de cultivo y la prueba inmunocromatográfica cualitativa para establecer la sensibilidad y especificidad en la detección del *Streptococcus pyogenes* en muestras de exudado faríngeo de pacientes que acuden al laboratorio del Hospital Isidro Ayora. Se aplicó la prueba de cultivo y prueba inmunocromatográfica; el cultivo es un método utilizado para la multiplicación de microorganismos como las bacterias y es considerado como un método fundamental para la identificación del *Streptococcus pyogenes*, dando resultados confiables. La prueba rápida en casete es un ensayo cualitativo inmunocromatográfica para la detección del antígeno carbohidrato de estreptococo A, en frotis de garganta, que brinda resultados inmediatos, contribuyendo a un diagnóstico rápido y confiable. Los resultados obtenidos señalan que existe una sensibilidad de 50 % y una especificidad de 98 % de la prueba rápida inmunocromatográfica frente a la prueba de cultivo con una sensibilidad de 100 % y una especificidad del 100 %. En base a los resultados se infiere que la prueba rápida es un método sencillo y eficaz para hacer un diagnóstico adecuado de la faringitis estreptocócica en consultas ambulatorias.

Palabras Claves: *Streptococcus pyogenes* – cultivo - prueba inmunocromatográfíca – exudado faríngeo- sensibilidad - especificidad.

ABSTRACT

The present investigation whose subject "*STREPTOCOCCUS PYOGENES* CULTURE VS QUALITATIVE IMMUNOASSAY TEST IN PATIENTS WITH PHARYNGEAL EXUDATE WHO VISIT THE ISIDRO AYORA DE LOJA HOSPITAL", was carried out at the Isidro Ayora hospital located in the city of Loja. Its objective was to permit a comparative analysis between the culture test and the qualitative immunochromatographic test to establish the sensitivity and specificity in the detection of *streptococcus pyogenes* in pharyngeal exudate samples of patients who visit the Isidro Ayora hospital laboratory. The culture test and immunochromatographic test were applied; culture is a method used for the multiplication of microorganisms such as bacteria and is considered a fundamental method for the identification of *streptococcus pyogenes*, giving reliable results. The rapid cassette test is a qualitative immunochromatographic assay for the detection of the streptococcal A carbohydrate antigen, in throat swabs, which provides immediate results, contributing to a rapid and reliable diagnosis. The results obtained indicate that there is a sensitivity of 50% and a specificity of 98% from the rapid immunochromatographic test compared to the culture test with a sensitivity of 100% and a specificity of 100%. Based on the results, it is inferred that the rapid test is a simple and effective method to make an adequate diagnosis of streptococcal pharyngitis in ambulatory consultations.

Key words: *Streptococcus pyogenes* - culture - immunochromatographic test - pharyngeal exudate - sensitivity - specificity.

3. INTRODUCCIÓN

El *Streptococcus pyogenes* es el principal microorganismo patógeno humano que produce invasión local o sistémica y trastornos inmunitarios. La mayor parte de estreptococos se desarrollan en medios de cultivo sólidos, como colonias discoídes, por lo general de 1 a 2 mm de diámetro. El *Streptococcus pyogenes* presenta como una característica principal beta hemólisis (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2010).

La faringitis estreptocócica es una de las afecciones más frecuentes que produce el *Streptococcus pyogenes* caracterizándose por ser una infección bacteriana que afecta a la parte posterior de la garganta y a las amígdalas, que se inflaman e irritan, lo que causa dolor de garganta. La Faringitis estreptocócica afecta a personas de toda edad siendo más frecuente en los niños (Jawetz et al.,2010).

Uno de los motivos más frecuentes de consulta la fiebre y dolor de garganta; tanto en los servicios de emergencias como en consultorios de pediatría, medicina interna o familiar. La causa más frecuente de las faringoamigdalitis en todos los grupos de edad son los virus y son afecciones que no requieren terapia específica, sin embargo en muchos casos se utilizan tratamientos con antibióticos; de acuerdo con Peñaranda & Peñaranda, (2012) el 25% de los aislamientos representan una infección bacteriana, de ellos, solo justificará tratamiento específico el estreptococo beta hemolítico del grupo A o *Streptococcus pyogenes*, por las posibles complicaciones tanto supurativas como no supurativas, en especial la fiebre reumática. El diagnóstico clínico de faringitis estreptocócica es difícil, debido a que las etiologías virales pueden tener presentaciones similares a la bacteriana, lo cual conlleva al sobrediagnóstico de esta patología y por consiguiente el uso indiscriminado de antimicrobiano.

La faringoamigdalitis por estreptococo B hemolítico en niños, cuya cifra estadística es de 450 millones en todo el mundo, con mayor frecuencia en países de bajos ingresos, debido a ciertos factores sociodemográficos en los que se destaca el hacinamiento, promueven el contagio de faringoamigdalitis (Llapa, Luna, & Macao, 2013).

Los índices de frecuencia publicados en Norte América oscilan entre l, 5 a 7 casos por l00.000 habitantes anualmente. Los resultados de una vigilancia basada en la población sugiere que aproximadamente 85% de las infecciones ocurren en la comunidad, el l0% son adquiridas en el hospital, el 4% ocurre entre residentes de instalaciones para cuidados y el 1% ocurre luego de un contacto cercano a un portador (Escobar, 2008).

En Latinoamérica diferentes estudios informan la alta frecuencia de faringitis por *Streptococcus pyogenes* en niños, del 15% a 36 % de los casos de dolor de garganta en niños son atribuibles a *Streptococcus pyogenes*. En Nicaragua, existe una tasa de prevalencia de 8,5% en niños asintomáticos, y en Guatemala, el 15% en niños con faringoamigdalitis. En el último reporte de indicadores básicos de salud del año 2009 en Medellín la faringitis y amigdalitis aguda representaron un 2,2% de la morbilidad por consulta externa (Restrepo, Munera, Ramírez, & Acuña, 2012).

En Argentina en el 2012, se reportó que las faringitis causadas por *Streptococcus pyogenes* alcanzaron el 19.4%. Según datos reportados por el MSP(Ministerio de Salud Pública) del Ecuador, departamento de información estadística y geográfica en el año 2014, ocupa la tercera causa dentro de la morbilidad de la población con 310.910 casos que corresponde al 12.88%. En la provincia de Pichincha Zona 9, representa la tercera causa de morbilidad con 63.841 casos diagnosticados de faringoamigdalitis, con un porcentaje de 5.01% (Álvez & Sánchez, 2016).

En el Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social se produjeron 4.342 casos en el 2015 de faringitis aguda que corresponde al 17,42% en Chimbacalle. En la provincia del Oro los casos de faringitis estreptocócica por *Streptococcus pyogenes* en el 2015 fueron de 27.123, en la provincia de Zamora de 9.517 y en la provincia de Loja 2.666 (Dirección Provincial de Salud Zonal 7).

El *Streptococcus pyogenes* es el agente más importante y frecuente de faringoamigdalitis bacteriana, por sus complicaciones asociadas, y su propagación de persona a persona, es importante su tratamiento específico; para el diagnóstico de esta patología se cuentan con diversos análisis de laboratorio tales como el cultivo considerado como prueba estándar de oro, y otras pruebas basadas en el inmunoanalisis e inmunocromatográfía diseñadas como pruebas rápidas que brindan un diagnóstico rápido y efectivo de esta patología, de lo cual surge la importancia de contar con pruebas rápidas y confiables para su identificación. Pues entre otros beneficios está la posibilidad de instaurar un tratamiento específico para *Streptococcus pyogenes* de forma temprana y oportuna, o descartar la aplicación de tratamiento con antibioticoterapia. Por lo que este tipo de prueba inmunocromatográfica puede resultar muy útiles en la consulta ambulatoria y cuando no se cuenta con laboratorios clínicos cercanos.

Es así que este estudio tuvo como objetivo establecer el crecimiento bacteriano de *Streptococcus pyogenes* mediante un exudado faríngeo, así mismo determinar la presencia o ausencia del antígeno carbohidratado de *Streptococcus pyogenes*, para lo cual se aplicó el método de cultivo y la prueba rápida inmunocromatográfica y finalmente realizar una comparación sobre la sensibilidad y especificidad de la prueba inmunocromatográfica frente al cultivo, obteniendo como resultados en el análisis a 60 pacientes, 2 casos positivos para la prueba inmunoensayo cualitativa y un positivo para el cultivo.

Mediante el autor Peñaranda & Peñaranda (2012), en la que 16 pacientes, diagnosticados con faringoamigdalitis, en 10 muestras (62%) fue positiva la prueba rápida inmunocromatográfica para *Streptococcus pyogenes* y 4 de ellos desarrollaron escarlatina. El cultivo paralelo realizado, confirmó *Streptococcus pyogenes* en los 10 pacientes que se realizó la prueba rápida. García, (2014), confirma que en la práctica clínica en Atención Primaria ambulatoria, el uso de la prueba rápida en casete supone una importante reducción en la prescripción de antibióticos.

Según Donis, (2012), la Asociación Española de Pediatría determinó que en un paciente con faringitis aguda es necesario descartar la presencia de *Streptococcus pyogenes* como agente etiológico, pero el cultivo suele demorarse 48horas o más, y al no disponer de métodos rápidos de diagnóstico, se tiende a administrar tratamiento empírico. El tratamiento antibiótico inadecuado supone un coste económico innecesario, puede ocasionar efectos secundarios y también contribuye a que aparezcan resistencias bacterianas. En cuanto a los resultados expuestos por dicha asociación estableció lo siguiente, una sensibilidad comprendida entre 65,6–96,4%; la especificidad osciló entre 68,7 y 99,3%; el valor predictivo positivo tuvo un rango de 59,4–97,4%, y el valor predictivo negativo entre 87,8–98%.

La facultad de Ciencias de la Salud de la universidad de Carabobo, determinó mediante un estudio a 60 pacientes: para el cultivo bacteriológico y el para la prueba rápida. 15% de los pacientes fueron diagnosticados clínicamente con faringitis estreptocócica. El cultivo resultó positivo para *Streptococcus pyogenes* en 11,7% de los pacientes, y el resultado de la prueba rápida fue positivo en 8,3% (Ruiz, Rodríguez, & Molina, 2010). De acuerdo al estudio realizado por García & Esparza, (2015) en 48 pacientes la estimación global de la

sensibilidad de la prueba rápida fue de 86% con variabilidad en el resultado final, mientras que en la especificidad mostró un valor del 96%

Mediante él estudio realizado por Hernández, y otros, (2010) en 263 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión en cuanto a la utilización del test de prueba inmunocromatográfica rápida, se obtuvo una sensibilidad de 91% y una especificidad de 87%. A través del estudio realizado por Pérez, (2014), se incluyó a 298 pacientes. La prevalencia de la faringoamigdalitis estreptocócica fue del 42,3%. El mejor rendimiento de la prueba rápida se obtuvo de la impresión diagnóstica inicial de faringoamigdalitis aguda bacteriana con sensibilidad del 96%.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. *Streptococcus pyogenes*

Son cocos Gram positivos que se agrupan de a pares o en cadenas de tamaño variable según provengan de muestras clínicas o de cultivo. Como todos los estreptococos, el *Streptococcus pyogenes* es exigente desde el punto de vista nutricional. Cuando se los cultiva en agar sangre forman colonias blancas o grises, rodeadas de una zona de hemólisis completa (β) producida por la acción de dos hemolisinas, estreptolisina S y estreptolisina O. Como todas las bacterias Gram positivas poseen una gruesa pared celular de peptidoglicano, que le otorga su rigidez estructural. En esta pared se encuentra el antígeno específico del grupo A, compuesto de un polímero de ramnosa y N-acetilglucosamina. Los estreptococos del grupo A poseen en su superficie proteína M, un importante factor de virulencia. Otro componente estructural de superficie, el ácido lipoteicoico, interviene en las primeras etapas de la colonización del huésped. Además, esta bacteria está cubierta por una cápsula de ácido hialurónico, que le permite evadir a las defensas del huésped.

4.2. Factores de virulencia

Los factores de virulencia del estreptococo del grupo A pueden ser clasificados de acuerdo con su localización en factores de superficie y extracelulares.

4.2.1. Factores de superficie.

4.2.1.1. Cápsula. Muchos estreptococos del grupo A (EGA) poseen una cápsula de ácido hialurónico difusa que participa en la evasión de la respuesta inmune al interferir con la función del componente C3b del complemento.

4.2.1.2. Ácido lipoteicoico. El primer evento de la infección estreptocócica es la adherencia a las células epiteliales, usualmente de la faringe. El sitio específico de unión es el extremo glicolipídico del ácido lipoteicoico de la pared celular bacteriana que se une a la fibronectina, una glicoproteína extracelular que actúa como receptor en el huésped. Luego de la adherencia y multiplicación se producen daño epitelial local y, en algunas infecciones, la posterior invasión por ruptura de la barrera epitelial.

4.2.1.3. Proteína M. Es la proteína principal de la superficie del estreptococo y está asociada a la virulencia del *GAS*; está codificada por el gen *emm*. La proteína M se usa para serotipar a las cepas de *Streptococcus pyogenes*. La proteína M es similar a la tropomiosina; se compone de dos cadenas polipeptídicas que forman una alfa hélice central flanqueada por dominios funcionales terminales. La hélice central tiene cuatro bloques con repeticiones, de la A a la D desde el N-terminal hacia el C-terminal, donde los bloques A y B se proyectan hacia la matriz extracelular, dándole la especificidad al serotipo; y el bloque D se encuentra adyacente a la zona de anclaje en el peptidoglucano de la pared celular. La proteína M protege a la bacteria de la fagocitosis al unirse al factor H (proteína reguladora del complemento) y fibrinógeno, y favorece la degradación del factor del complemento C3b. Esta se encuentra anclada por el grupo carboxilo a la membrana citoplasmática y, por una secuencia altamente conservada, se extiende a través de la pared celular. Las proteínas M se subdividen en dos tipos, moléculas de clase I y moléculas de clase II, las bacterias portadoras de la proteína M clase I están asociadas con fiebre reumática

4.2.1.4. Factor H. Con más avidez que con el factor B (proteínas reguladoras del sistema del complemento, que inactivan y activan los componentes del sistema, respectivamente) favoreciendo así la degradación del C3b, generado por la vía alterna.

Como consecuencia se previene la opsonización de la bacteria por el C3b. Cuando se producen anticuerpos específicos anti-M, la bacteria puede ser opsonizada y fácilmente eliminada. Pero, existen más de 80 serotipos de proteína M y los anticuerpos contra un serotipo no protegen contra los demás. La modificación del tipo antigénico de la proteína M, que permite evitar su reconocimiento por el sistema inmune del huésped, se produce por el mecanismo de variación antigénica.

4.2.1.5. Proteínas símil-tipo M. El EGB posee otras proteínas de superficie denominadas proteínas símil-tipo M, que tienen una secuencia, estructura y anclaje similar a la proteína M. Se diferencian porque en lugar de unirse al factor H se unen a la porción Fc de la IgG e IgA, de manera similar a lo que ocurre con la proteína A de *Staphylococcus aureus*. La participación de estas proteínas en la virulencia de la infección por estreptococo del grupo A se encuentra en estudio. Un probable mecanismo sería recubrir a la bacteria con proteínas del huésped y así escapar al reconocimiento del complemento y de sistema inmune.

4.2.1.6. Proteasa C5a. Este factor de la pared celular del estreptococo del grupo A es una inusual proteasa que degrada al C5a. Este componente activo del complemento es quimiotáctico y estimula la respuesta del sistema bactericida oxidativo. La bacteria se protege a si misma de este mecanismo por la peptidasa C5a. Es un importante factor de virulencia ya que mutantes del EGA que no lo producen son menos virulentas que la cepa salvaje en modelos animales de experimentación.

4.3. Factores Extracelulares

Streptococcus pyogenes produce un número de factores de virulencia que sintetiza y secreta al medio durante la infección, los cuales son:

4.3.1. Estreptoquinasa. Enzima que produce la lisis de los coágulos de fibrina por acción indirecta al catalizar la conversión del plasminógeno del plasma normal en plasmina. La estreptoquinasa es antigénica e induce la formación de anticuerpos durante la infección. Si bien su papel en la patogénesis no está claro, resulta relevante por su utilidad terapéutica como agente trombolítico.

4.3.2. Hialuronidasa. Degrada el ácido hialurónico, un componente de sostén del tejido conectivo. Esta enzima facilita el pasaje de la bacteria a través de los tejidos

4.3.3. Estreptolisina O. Es una de las enzimas responsables (aunque en poca medida) del hemólisis en el agar sangre. Esta proteína es antigénica y oxígeno-lábil. Participa en la lisis de leucocitos, células tisulares y plaquetas, formando poros en su superficie.

4.3.4. Estreptolisina S. Es otra hemolisina, pero de bajo peso molecular y poco antigénica. Es estable frente al oxígeno y es responsable del hemólisis en el agar sangre cuando las placas se cultivan en aerobiosis. Juega un papel importante en la generación de daño de tejido.

4.3.5. Exotoxina pirogénica estreptocóccica. Antes conocida como toxina eritrogénica, es la responsable de las manifestaciones cutáneas de la escarlatina. Es producida sólo por cepas de EGA que están lisogenizadas con un bacteriófago particular. Se han descripto 7 serotipos (A, B, C, F, G, H y J).

4.4. Patologías

4.4.1. Enfermedades producidas por *Streptococcus pyogenes*. Puede colonizar asintomáticamente la cavidad faríngea. Ocasiona una gran variedad de infecciones, pero sin duda la más frecuente es la faringitis. Para facilitar su estudio podemos clasificarlas en:

infecciones piógenas, enfermedades producidas por la exotoxina pirogénica, y complicaciones postestreptocóccicas no supurativas.

4.4.1.1. Infecciones piógenas. La infección piógena es una infección que produce la acumulación de leucocitos y bacterias muertas, dentro de las cuales podemos encontrar:

4.4.1.1.1. Faringitis. Es un síndrome inflamatorio de la faringe de etiología diversa. Se trata de una de las enfermedades infecciosas más frecuentes del tracto respiratorio, sobre todo en niños en edad escolar. Los microorganismos que la causan se ponen en contacto con la mucosa, se adhieren y se multiplican localmente. Desde allí pueden transportarse en gotas de saliva o por aerosoles hacia las vías respiratorias de otros individuos. Entre el 60 y el 80% de las infecciones de las faringitis tienen etiología viral.

4.4.1.1.2. Faringitis estreptocócica. La mayor incidencia de faringitis se da a fines del invierno y en la primavera, y en pacientes entre 5 a 15 años. EGA puede colonizar la orofaringe de niños sanos en un 20% de los casos (portadores asintomáticos). El período de incubación de la enfermedad es de 2 a 4 días. Su inicio se manifiesta con odinofagia, malestar general, hipertermia y cefalea. En los niños son comunes las náuseas, vómitos y dolor abdominal. Las amígdalas aparecen tumefactas, hiperémicas, con exudado blanco grisáceo, acompañadas de adenomegalias dolorosas al tacto. No todos los pacientes presentan este cuadro completo. El diagnóstico diferencial debe establecerse principalmente con la faringitis por adenovirus y la mononucleosis infecciosa. Los adenovirus producen una angina roja, a veces también con exudado purulento, que se acompaña de manifestaciones clínicas parecidas, pero más leves. La mononucleosis infecciosa origina una amigdalitis congestiva o con abundante exudado purulento, que se acompaña de poliadenopatías, esplenomegalia esporádica, fiebre más prolongada,

exantema cutáneo, cuadro hematológico periférico típico y prueba de Paul-Bunnell positiva.

4.4.1.1.3. Erisipela. Es una infección de la piel usualmente causada por EGA. La infección compromete a la dermis y a la parte superficial del tejido subcutáneo, involucrando además a los ganglios linfáticos superficiales. Se presenta con dolor, edema e induración. La principal característica clínica es que los bordes de la lesión están demarcados de la piel adyacente normal. Se produce un agudo aumento de fiebre, escalofríos y linfadenopatía regional. Este proceso afecta con mayor frecuencia el rostro y también el tronco y las extremidades. La erisipela facial en general resuelve espontáneamente en un período de 4 a 10 días. En cambio, una lesión del tronco o extremidades puede afectar grandes zonas y terminar fatalmente.

4.4.2. Enfermedades debidas a la exotoxina pirogénica. La exotoxina es una proteína secretada extracelularmente por un microrganismo *Streptococcus pyogenes*, causante de enfermedades como:

4.4.2.1. Escarlatina. Resulta de la infección con un estreptococo del grupo A que elabora exotoxina pirogénica. Aunque se la asocia con infecciones faríngeas, puede seguir a otras infecciones como heridas o sepsis puerperal. La producción de la toxina es inducida por la presencia de un bacteriófago en estado de lisogenia. La erupción aparece casi siempre al segundo día de la enfermedad como un eritema difuso con puntos rojos que desaparecen con la presión. Se localiza en la región superior del tórax y luego se extiende al resto del tronco, cuello y extremidades. La oclusión de las glándulas sudoríparas le confiere a la piel una "textura de papel de lija". La erupción cutánea desaparece en el curso de una semana y es seguida por una intensa descamación.

4.4.3. Complicaciones postestreptocóccicas no supurativas. Entre las complicaciones más comunes que se pueden presentar, tenemos:

4.4.3.1. Fiebre reumática aguda. Es una enfermedad que se caracteriza por la presencia de lesiones inflamatorias no supurativas que afectan principalmente el corazón, las articulaciones, los tejidos subcutáneos y el sistema nervioso central. En su forma clásica es aguda, febril y generalmente autolimitada, pero en muchos casos puede producirse daño crónico y progresivo de las válvulas cardíacas con posterior insuficiencia cardíaca severa, discapacidad y aún muerte. La fiebre reumática aguda es una secuela tardía (tres semanas posteriores) de la infección del tracto respiratorio alto por EGA,

4.4.3.2. Glomerulonefritis. Es una enfermedad inflamatoria aguda del glomérulo renal. Se caracteriza anatómica y patológicamente por lesiones glomerulares difusas y clínicamente por edema, hipertensión, hematuria y proteinuria. La glomerulonefritis aguda postestreptocóccica es una secuela tardía de la infección faríngea o cutánea con ciertas cepas “nefritogénicas” de EGA, que pertenecen a un número limitado de serotipos M. El tipo 12 es el serotipo M que produce glomerulonefritis aguda con mayor frecuencia luego de una faringitis y el serotipo M-49 es el más relacionado con nefritis asociada a pioderma. No se sabe por qué mecanismo preciso la infección estreptocóccica origina la glomerulonefritis aguda (Pascual, 2017).

4.5. Métodos Diagnósticos

4.5.1. Exudado faríngeo. El exudado faríngeo es una prueba de laboratorio que tiene la finalidad de identificar y aislar aquellos microorganismos que son los causantes de una infección en la garganta. También llamada frotis faríngeo, puede ayudar a determinar las causas de dolor de garganta. Con frecuencia el dolor se debe a un virus, pero el cultivo permite determinar si se debe a una bacteria estreptocócica, para que los médicos puedan

brindar el tratamiento adecuado. De manera particular, se realiza utilizando un hisopo especial para detectar la presencia de estreptococo grupo A, que es la causa más común de la faringitis estreptocócica.

La garganta puede doler al momento del examen e igualmente se puede experimentar una sensación de náuseas cuando se toca la parte posterior de la garganta con el aplicador de algodón, pero el examen sólo dura unos cuantos segundos. Se debe de enfocar una luz brillante dentro de la cavidad bucal por encima del hombro de la persona que toma la muestra, se deprime la lengua mediante un bajalenguas para obtener mayor visualizacion de la faringe y amigdalas. Se pide al pacuiente que respire profundamente y mediante un hisopo se frota con firmesa ambas amigdalas y parte de la faringe posterior, al momento de introducir el hisopo se debe tener cuidado de no tocar las paredes laterales de la cavidad bucal o lengua para reducir al mínimo la contaminación con bacterias de la flora comensal. Finalmente se introduce el hisopo en tubo estéril con solución fisiológica conservandolo menosde dos horas a temperatura ambiente (Valencia, 2009)

4.5.2. Cultivo. Es un método para la multiplicación de microorganismos, tales como lo son bacterias en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado. Este a su vez es empleado como un método fundamental para el estudio de las bacterias y otros microorganismos que causan enfermedades. Un microorganismo se puede sembrar en un medio líquido o en la superficie de un medio sólido de agar. Los medios de cultivo contienen distintos nutrientes que van, desde azúcares simples hasta sustancias complejas como la sangre o el extracto de caldo de carne. Para aislar o purificar una especie bacteriana a partir de una muestra formada por muchos tipos de bacterias, se siembra en un medio de cultivo sólido donde las células que se multiplican no cambian de localización; tras muchos ciclos reproductivos, cada bacteria individual genera por escisión binaria una

colonia macroscópica compuesta por decenas de millones de células similares a la original. Si esta colonia individual se siembra a su vez en un nuevo medio crecerá como cultivo puro de un solo tipo de bacteria (Jawetz et al., 2010).

4.5.2.1. Medio de cultivo empleado.

4.5.2.1.1. Agar sangre. Es un medio enriquecido que se utiliza además para la investigación de los diversos tipos de hemólisis (α, ß o gamma). 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 (Casado, Torrico, & Medina, 2012).

4.5.2.2. Características de un medio de cultivo para identificación de Streptococcus pyogenes. La mayor parte de los estreptococos se desarrolla en medios sólidos como colonias discoídes, por lo general de 1 a 2 mm de diámetro.

El crecimiento es óptimo en un medio de Agar sangre enriquecido, pero se inhibe si el medio contiene una concentración elevada de glucosa. Las colonias de *Streptococcus pyogenes* son circulares, betahemolitícas, de borde entero y con un diámetro variable de

0.3 a 0.5 mm, pueden presentar tres formas: mate, brillante y mucosa. El tamaño dela zona de hemolisis es de dos a cuatro veces el diámetro de la colonia y en algunas cepas es menor (Valencia, 2009).

***4.5.2.3. Procedimiento*.** A continuación se procede a sembrar cada uno de los medios por la técnica de los cuatro cuadrantes, y así obtener un mejor aislamiento de las colonias.

- El primer día se incubarán todos los medios en aerobiosis, excepto el de agar sangre, que se incuba dentro de una campana de anaerobiosis. Para crear dicho ambiente de anaerobiosis, se introducirá en la campana un sobre que tiene como función quelar el oxígeno disponible, tanto en el espacio interno de la campana como en el de la placa. Para comprobar que estas condiciones anaeróbicas se han dado, se introducirá también dentro de la campana una tira, la cual en un principio es de color azul, y tras el periodo de incubación, si efectivamente se han dado dichas condiciones, esa coloración cambiará a transparente. La incubación tendrá una duración de 24 horas a 37^{0}C.

- El segundo día, todos los medios que anteriormente fueron incubados en aerobiosis, se incubarán en anaerobiosis como ya se explicó en el párrafo anterior. Además se sembrará otra placa de agar sangre, pero esta vez se incuba en aerobiosis. Esta segunda incubación tiene una duración de 24 horas a 37°C.

- En segundo lugar, se realizará la visualización macroscópica a las placas en las que se producirán crecimiento bacteriano, éstas placas corresponden con las dos de agar sangre, una incubada en condiciones de aerobiosis y otra en anaerobiosis. En ambas placas se observará que las colonias tendrán un halo de hemólisis correspondiente a la beta hemólisis. En un último momento se visualizara las dos placas con la luz

ultravioleta, para así diferenciar entre diferentes géneros de microorganismos (Facundo, 2016).

4.5.3. Tinción de Gram. Esta tinción se denominada así por el bacteriólogo danés Christian Gram, quien la desarrolló en 1844. Sobre la base de su reacción a la tinción de Gram, las bacterias pueden dividirse en dos grupos, grampositivas y gramnegativas. La secuencia de la tinción es la siguiente: el Frotis fijado con calor se tiñe 1 minuto con Violeta Cristal, se lava con agua, se cubre con solución Yodada durante 1 - 2 min. y se lava de nuevo con agua, decolorar con mezcla alcohol acetona. Escurrir y cubrir con Safranina (color de contraste) durante 1 – 2 minutos se lava y se seca.

4.5.3.1. Descripción de la tinción de Gram. Las células fijadas al calor sobre un portaobjetos se tiñen, primero con una solución de cristal violeta y son lavadas después para quitar el exceso de colorante. En este estado, todas las células, tanto las grampositivas como las gramnegativas, están teñidas de azul.

El portaobjetos se cubre entonces con una solución de yodo-yoduro potásico. El ingrediente activo es aquí el I2; El diyodo entra en las células y forma un complejo insoluble en agua con el cristal violeta. De nuevo tanto las células grampositivas como las gramnegativas se encuentran en la misma situación. Se lleva a cabo después la decoloración, usando una mezcla de alcohol-acetona, sustancias en las que es soluble el complejo Diyodo -cristal violeta. Algunos organismos grampositivos no se decoloran, mientras que otros gramnegativos lo hacen. La diferencia esencial entre esos dos tipos de células está por tanto en su resistencia a la decoloración; esta resistencia se debe probablemente al hecho de que en el caso de bacterias gramnegativas, la mezcla de alcohol-acetona es un solvente lipídico y disuelve la membrana exterior de la pared de la célula y también puede dañar la membrana citoplásmica a la que se une péptidoglicano.

La delgada capa de péptidoglicano es incapaz de retener el de complejo cristal violeta-yodo y la célula se decolora. Las células grampositivas, a causa de sus paredes celulares más espesas, no son permeables al disolvente, provocando que el de complejo cristal violeta-yodo quede atrapado dentro de la pared celular. Después de la decoloración las células grampositivas son todavía azules, pero las gramnegativas son incoloras. Para poner de manifiesto las células gramnegativas se utiliza una coloración de contraste. Habitualmente es un colorante de color rojo, como la safranina. Después de la coloración de contraste las células gramnegativas son rojas, mientras que las grampositivas permanecen azules (Santambrosio, Ortega, & Garibald, 2009).

4.5.3.2. Procedimiento de la técnica.

Tinción 1: Durante un minuto se cubre la superficie donde están las bacterias con unas pocas gotas del colorante cristal violeta. Pasado este tiempo se elimina el exceso y se lava el portaobjetos con agua corriente, con cuidado para que el chorro de agua no caiga directamente sobre la muestra ni sea un flujo demasiado rápido como para eliminar las bacterias del portaobjetos.

Tinción 2: Aquí es donde se introdujeron las mejoras de Hucker, agregando lugol durante 30 segundos y decolorando con alcohol: acetona (en proporciones 1:1) 3 segundos y se vuelve a lavar como antes. La modificación de Kopeloff utiliza como decolorante alcohol-acetona (7:3) segundos y los tiempos de tinción son diferentes.

Tinción 3: Se añade safranina durante 30 segundos y se vuelve a lavar. Que puede sustituirse por carbol-fucsina, para bacterias anaerobias (Contreras, 2012).

En el resultado de la lectura se lo efectúa con lente de inmersión de 100 x observando cocos grampositivos formando parejas y cadenas.

4.5.4. Pruebas bioquímicas para identificación de *Streptococcus pyogenes.*

4.5.4.1. Prueba de bacitracina. Empleada para la diferenciación de estreptococos beta hemolíticos del grupo A de otros estreptococos beta hemolíticos. La bacitracina es un antibiótico que inhibe la síntesis de pared celular bacteriana, y a la concentración que se encuentra en los discos (0,04 U) inhibe el crecimiento de los estreptococos beta hemolíticos del grupo A de Lancefield pero no inhibe el desarrollo de otros estreptococos beta hemolíticos.

Un resultado sensible a la bacitracina 0,04 U es presuntivo de la presencia de estreptococo grupo A, y se puede incrementar además el valor diagnóstico y facilitar la identificación de la cepa bacteriana en cuestión mediante la utilización de los discos de PYR-A-Enterococos estreptococos beta hemolíticos (Valencia, 2009).

- **Almacenamiento:** Entre -20 y 0°C, alternativamente a 2-8 °C durante 7 días.
- **Procedimiento:**

Siembra

- Realizar una suspensión del microorganismo en estudio (de turbidez igual a la del estándar 0.5 de la escala de Mac Farland).
- Mediante la técnica de hisopado en superficie, inocular el microorganismo en estudio en una placa de Agar Sangre.
- Colocar un disco de Bacitracina de 0,04 U sobre la superficie del agar.

Incubación

En atmósfera 5-10% de CO, a 35-37 ºC durante 24 horas.

Interpretación de los Resultados

Observar si existe zona de inhibición del desarrollo microbiano alrededor del disco de Bacitracina 0,04 U.

- **Lectura:**

  - **Sensible.** Presencia de halo de inhibición (independientemente del diámetro) del desarrollo alrededor del disco. Informar: estreptococo beta hemolítico presuntivamente del grupo A por la prueba de bacitracina.
  - **Resistente.** Ausencia de halo de inhibición del desarrollo alrededor del disco.

Informar: estreptococo beta hemolítico que presuntivamente no pertenece al grupo A por la prueba de bacitracina.

4.5.4.2. Prueba de la catalasa. El peróxido de hidrógeno es el producto final del metabolismo oxidativo de carbohidratos, a esta vía metabólica recibe el nombre de metabolismo aerobio-oxidativo.

La acumulación del peróxido es muy toxico por lo que la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas exceptuando a *Streptococcus spp,* producen una enzima llamada catalasa que degrada el peróxido de hidrógeno obteniendo agua y oxigeno gas (Valencia, 2009).

- **Técnica e interpretación de la prueba.** El reactivo utilizado en la prueba es el peróxido de hidrogeno al 30%, hay diferentes técnicas para realizar la prueba la más común es poner una gota de peróxido en el portaobjetos y posteriormente con un palillo plano tomar un poco de bacteria a partir de una colonia aislada, si se observa el burbujeo generalmente intenso significa que hay producción de oxígeno por lo tanto se

entiende que hay presencia de la enzima catalasa., hay bacterias que dan una reacción positiva débil aunque son las menos (Valencia, 2009).

4.5.4.3. Prueba de la Optoquina. La optoquina es una sustancia química, clorhidrato de etihidrocupreína, la base del disco de optoquina es insoluble en agua. El clorhidrato de etihidrocupreína es completamente hidrosoluble; la optoquina es un derivado del alcaloide hidroquinina que se prepara por hidrogenación, desmetilación y etilación de la quinina.

Esta prueba se utiliza para la diferenciación de *Streptococcus pneumoniae* (sensible) de otros estreptococos α- hemolíticos. La sensibidad de la optoquina es una medida de la fragilidad de la membrana celular bacteriana. La optoquina (clorhidrato de etilhidrocupremia) se utiliza en una solución acuosa de 1 / 4000 para impregnar los discos quedando al final en ellos 5 microgramos (ug) de optoquina.

- **Fundamento.** La optoquina inhibe el crecimiento de estreptococos, mientras que otros estreptococos o no son inhibidos o bien presentan una zona pequeña de inhibición alrededor del disco (MacFaddin, 2003).

4.5.5. Inmuno ensayo cualitativo inmunocromatográfico.

4.5.5.1. Fundamento. La prueba de casete rápida es un ensayo cualitativo inmunocromatográfico para la detección del antígeno carbohidrato de estreptococos A, en frotis de garganta. La membrana inmunocromatográfica lleva incorporado el anticuerpo específico de este antígeno en la zona T de test.

4.5.5.2. Utilidad clínica. Esta prueba de casete inmunocromatográfica cualitativa contribuye al diagnóstico y tratamiento adecuado para la bacteria. Es de gran uso en consultas de atención primaria; asimismo se identificó el perfil clínico con mejor rendimiento diagnóstico, se cuantificó el uso innecesario de antibióticos cuando se

utilizaba la prueba o solamente diagnóstico clínico y se determinó la sensibilidad microbiana a penicilina, eritromicina y clindamicina.

4.5.5.3. Interpretación de la prueba. En el ensayo, las muestras procedentes del frotis de garganta migran y reaccionan con el anticuerpo especifico anti-streptococcus A generando una banda coloreada en la región T del casete. En consecuencia, la presencia de una banda coloreada en la región T indica un resultado positivo, mientras que la ausencia, indica un resultado negativo. Una banda coloreada en la zona C de Control, indica que el ensayo se ha realizado correctamente. De no aparecer esta banda, los resultados del ensayo no son válidos.

La faringoamigdalitis es sin duda, una de las principales entidades dentro de los procesos infecciosos en la infancia. Entre ellas, las producidas por estreptococos B-hemolítico del grupo A. Múltiples publicaciones han demostrado la falta de adecuación del tratamiento antibiótico en la faringoamigdalitis, con unas tasas excesivas de utilización. Un reciente metaanálisis establece que la etiología de la faringitis en países desarrollados sería por *Streptococcus pyogenes* en un 37% de casos en niños menores de 18 años, y en un 24% en niños menores de 5 años.

Para evitar resultados erróneos es esencial realizar bien la técnica de hisopado, ya que a una mala recogida se pueden atribuir la mayoría de falsos negativos en la prueba. Está demostrado que la cantidad de antígeno condiciona más los resultados de un inmunoensayo cualitativo que los del cultivo tradicional. El volumen de antígeno recogido importa para efectuar un correcto análisis y evitar falsos positivos.

La recomendación es que se realice un toque en cada amígdala con giro del hisopo de 180º y un tercer toque en faringe posterior con la misma maniobra. Es importante evitar el contacto con mucosa bucal y lingual y con la saliva. Bien realizada la toma, la

sensibilidad y especificidad de los más recientes inmunoensayos cualitativos inmunocromatográficos es de (84 a 99% y 95 a 99% respectivamente), son suficientes como para recomendar su amplia utilización para el diagnóstico de faringitis estreptocócica causada por *Streptococcus pyogenes* (García, 2014).

4.6. Validación de pruebas diagnósticas

4.6.1. Cálculo de especificidad y sensibilidad de una prueba de cultivo y una prueba inmunocromatográfica cualitativa.

4.6.1.1. Sensibilidad. La sensibilidad es el porcentaje de verdaderos positivos o la probabilidad de que la prueba sea positiva si la enfermedad está presente; los falsos negativos son sujetos enfermos diagnosticados como sanos (Pita & Pértegas, 2010) .

Puede definirse también en términos probabilísticos como la probabilidad de tener un resultado positivo dado que se está enfermo.

A los resultados negativos en este grupo, se los llama falsos negativos. Puede verse como una prueba muy sensible si tiene pocos falsos negativos y viceversa, una prueba con baja sensibilidad (poca capacidad para detectar al enfermo como enfermo) tendrá una alta tasa de resultados falsos negativos.

La sensibilidad se puede calcular a partir de la siguiente relación:

$$Sensibilidad = \frac{\mathrm{VP}}{\mathrm{VP} + \mathrm{FN}} \mathrm{X}100$$

Donde VP es verdaderos positivos y FN falsos negativos

- **Verdaderos Positivos (VP).** Son el número de pacientes enfermos en los que la prueba dio positiva (diagnóstico correcto). Primero se estima el total de enfermos, de este total se calcula los verdaderos positivos mediante el porcentaje de sensibilidad que tiene la prueba o dicho de otra manera la sensibilidad nos permite calcular la proporción de enfermos con prueba positiva.

- **Falsos negativos (FN).** Son el número de pacientes enfermos en los que la prueba dio negativa (diagnóstico incorrecto). Los falsos negativos surgen de restar al total de enfermos los verdaderos positivos.

Falsos negativos = Total de enfermos –Verdaderos positivos

4.6.1.2. Especificidad. La especificidad de una prueba es la probabilidad de que un sujeto sano tenga un resultado negativo en la prueba. La especificidad es el porcentaje de verdaderos negativos o la probabilidad de que la prueba sea negativa si la enfermedad no está presente. Los falsos positivos son sujetos sanos diagnosticados como enfermos

$$E = \frac{\mathrm{VN}}{\mathrm{VN} + \mathrm{FP}} \mathrm{X}100$$

Donde VN, serían los verdaderos negativos; y FP, los falsos positivos.

- **Verdaderos Negativos (VN):** Son el número de pacientes sanos en los que la prueba dio negativa (diagnóstico correcto).

- **Positivos (FP):** Son el número de pacientes sanos en los que la prueba dio positiva (diagnóstico incorrecto). Los falsos positivos se calculan restando al total de sanos los verdaderos negativos (Cuevas & Alejo, 2010).

Falsos positivos = Total de sanos –Verdaderos negativos.

4.6.2. Valores Predictivos.

4.6.2.1. Valor predictivo positivo (VPP). Es la probabilidad de tener la condición de estudio (enfermedad o patrón de referencia positivo) si la prueba ha sido positiva. También puede ser definido como la proporción de verdaderos positivos respecto al total de pruebas positivas.

Para calcular el VPP de una prueba diagnóstica se ha de dividir el número enfermos con prueba positiva por la sumatoria de los enfermos con prueba positiva y los sujetos "no enfermos" con prueba positiva.

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP} \text{X}100$$

4.6.2.2. Valor predictivo negativo (VPN). Es la probabilidad de no tener la condición de estudio (enfermedad ausente o patrón de referencia negativo) si la prueba ha sido negativa. También puede ser definido como la proporción de verdaderos negativos respecto al total de pruebas negativas. Para calcular el VPN se debe dividir el número de enfermos con prueba negativa por la sumatoria de los enfermos con prueba negativa y los sujetos "no enfermos" con prueba negativa (Medina, 2011).

$$VPN = \frac{VN}{FN + VN} \text{X}100$$

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Tipo de estudio

La presente investigación en base a los objetivos planteados y a la problemática es de tipo descriptivo, transversal; descriptivo porque permitió identificar casos de faringitis estreptocócica por *Streptococcus pyogenes*, de igual manera estimar su frecuencia y examinar tendencias de la población estadística según las variables de estudio.

Es un estudio transverso en el tiempo pues se diseña y comienza a realizarse en el presente hasta determinar o no la aparición del efecto.

5.2. Área de estudio

El Hospital Provincial Isidro Ayora, situado en la ciudad de Loja, cuenta con una categoría de atención de segundo nivel ubicado en las calles Avenida Iberoamericana y Juan José Samaniego, brinda atención a la población de la provincia de Loja, provincia de Zamora Chinchipe y parte alta del Oro (Anexo 1 figura 4-5).

Cuenta con una infraestructura amplia, albergando diferentes áreas de atención como consulta externa, hospitalización, cuidados intensivos, cirugía general; Además ofrece servicios complementarios como el Laboratorio Clínico, en el cual se realizan estudios de diversas áreas como los de tipo bacteriológico e inmunológico, para lo cual tiene equipos y personal calificado, lo que permite realizar procedimientos correctos para la detección, análisis y estudio de microorganismos patológicos.(Anexo 1 figura 1-2-3).

5.3. Universo

71 pacientes que acuden al laboratorio del Hospital Isidro Ayora de Loja a realizarse el examen de cultivo de exudado faríngeo, durante el periodo octubre 2017- febrero 2018.

5.4. Grupo de estudio

Se tomó como grupo de estudio a 60 pacientes de todas las edades que acudieron al servicio de laboratorio clínico del hospital Isidro Ayora de Loja por problemas de infecciones respiratorias superiores, y con pedido de cultivo de exudado faríngeo (Poveda, s.f.).

Para ello se empleó la siguiente formula:

z = Nivel de confianza 95%
p = Probabilidad a favor 50%
q = Probabilidad en contra 50%
n = Muestra
N = Población
e = Error máximo permitido 0,05%
Tabla de distribución estándar = 1,96

$$n = \frac{z^2 * \mathrm{p} * \mathrm{q} * \mathrm{N}}{e^2(\mathrm{N} - 1) + z^2 * \mathrm{p} * \mathrm{q}}$$

$$n = \frac{(1{,}96)^2(0{,}5)(0{,}5)(71)}{(0{,}05)^2(71 - 1) + (1{,}96)^2(0.5)(0.5)}$$

$$n = 60$$

5.5. Criterios de inclusión

- Muestras de pacientes con pedido de cultivo de exudado faríngeo
- Pacientes que presenten el consentimiento Informado para realizar el estudio.

5.6. Criterios de exclusión

- Pacientes que no reúnan las condiciones de la toma de muestra
- Pacientes que ya hayan sido muestreados durante este estudio (no pueden haber dos muestras de un mismo paciente, genera sesgo de muestreo).

5.7. Métodos técnicas y procedimientos

El proceso para la determinación de *Streptococcus pyogenes* a través de las pruebas planteadas en este estudio, se lo realizó mediante tres etapas: fase pre analítica, fase analítica y fase pos analítica.

5.7.1 Fase Pre-Analítica

- Se procedió a solicitar la respectiva autorización al Director del Hospital Isidro Ayora de Loja para el desarrollo de la investigación (Anexo 2).
- Se procedió a dar a conocer al departamento de Laboratorio Clínico sobre el estudio y el periodo a efectuarse.
- Se obtuvo el consentimiento informado, el cual fue explicado de manera clara, sencilla por parte del investigador todos los aspectos relacionados con la investigación. Además se dio a conocer las condiciones e indicaciones para la toma de la muestra (Anexo 3).
- Se realizó la toma de muestras de exudado faríngeo.

Protocolo de exudado faríngeo.

Dentro de las consideraciones generales para el exudado faríngeo debemos tomar en cuenta que el diagnóstico de laboratorio correcto y oportuno depende del cuidado con que se realice la toma, manejo y envío de muestras siguiendo al detalle las instrucciones al respecto.

Se procedió a preparar el material necesario para la realización de cultivo faríngeo, de igual manera la identificación o etiquetado del usuario que corresponda al número de solicitud de pedido. Durante el proceso de recolección de muestra se aplicó las normas de bioseguridad. (Anexo 4).

5.7.2. Fase Analítica. Para el procesamiento de las muestras, se efectuó los siguientes procedimientos y técnicas:

- Realización de la prueba rápida para la detección del Antígeno Carbohidratado de *Streptococcus pyogenes* aplicando el protocolo establecido (Anexo 5).
- Se efectuó un Gram directo de la muestra en un portaobjetos (Anexo 6).
- Se procedió a realizar la prueba de cultivo; para ello se siguieron los siguientes protocolos: Los cultivos que presentaron crecimiento bacteriano, con colonias blancas mucoídes de 1 a 2 mm con betahemolisis, se procedió a realizar las pruebas de catalasa, bacitracina y optoquina que permiten confirmar la presencia de bacteria *Streptococcus pyogenes* en muestra de exudado faríngeo (Anexo 7).

Prueba de la catalasa.

El peróxido de hidrógeno es el producto final del metabolismo oxidativo de carbohidratos, esta vía metabólica recibe el nombre de metabolismo aerobio-oxidativo.

La acumulación del peróxido es muy tóxica por lo que la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas exceptuando a estreptococos *spp,* producen una enzima llamada catalasa que degrada el peróxido de hidrógeno obteniendo agua y oxigeno gas (Anexo 8).

Pruebas Bioquímicas.

- **Prueba de bacitracina.** Empleada para la diferenciación de estreptococos beta hemolítico del grupo A de otros estreptococos beta hemolítico. La bacitracina es un antibiótico que inhibe la síntesis de pared celular bacteriana (Anexo 9).
- **Prueba de la optoquina.** La prueba de la Optoquina se utiliza para la diferenciación de S*treptococcus pneumoniae* (sensible) de otros estreptococos α- hemolíticos. La sensibilidad de la optoquina es una medida de la fragilidad de la membrana celular bacteriana. La optoquina se utiliza en una solución acuosa esta a su vez inhibe el crecimiento de *Streptococcus pneumoniae,* mientras que otros estreptococos o no son inhibidos o bien presentan una zona pequeña de inhibición alrededor del disco (Anexo 10).
- **Lectura de resultados.** Registro de los datos realizado en el formulario diseñado.

5.7.3. Fase pos-analítica. Reporte de resultados, validado por parte de la Dra. Beatriz Celi de Laboratorio de microbiología del Hospital Isidro Ayora de Loja.

5.8. Instrumento de recolección de datos

Registro de resultados de las pruebas (Anexo 11).

5.9. Historia Clínica

Revisión de los casos positivos de *Streptococcus pyogenes* para conocer si presentaban faringitis estreptocócica. (Anexo 12).

5.10. Tabulación e interpretación de resultados

Se empleó como herramienta principal Microsoft Excel, útil para el análisis estadístico y tabulación de los resultados obtenidos.

5.11. Presentación de datos

Los datos recolectados mediante la investigación, fueron expuestos en gráficos estadísticos que proporcionaron comprensión de los resultados obtenidos

5.12. Consideraciones éticas

- Autorización por parte de las autoridades del Hospital Isidro Ayora de Loja para el proceso de la investigación.
- El consentimiento informado de los pacientes que participarán en la investigación, el mismo que fue firmado, conservando la integridad de los pacientes en todo el proceso, manejado con absoluta confidencialidad.

6. RESULTADOS

ESTABLECER EL CRECIMIENTO BACTERIANO DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* MEDIANTE CULTIVO DE EXUDADO FARÍNGEO EN AGAR SANGRE DE CORDERO.

Tabla N° 1

Crecimiento bacteriano de Streptococcus pyogenes

DESCRIPCIÓN RESULTADO	Frecuencia	Porcentaje
Desarrollo de *Streptococcus pyogenes*	1	2%
Desarrollo de microbiota faringea y otros microorganismos	56	93%
Sin crecimiento bacteriano en 48 horas de incubación	3	5%
TOTAL	**60**	**100%**

Fuente: Registro de resultados de la investigación
Elaborado por: Fabián Díaz

Interpretación. De 60 pacientes a los cuales se tomó muestra de exudado faríngeo que corresponde al 100%, el 98% presentaron desarrollo de microbiota faríngea y otros microorganismos; el 5% sin crecimiento bacteriano en 48 horas; y el 2% presentó crecimiento de *Streptococcus pyogenes*.

Análisis. A todos los pacientes se les realizó un correcto exudado faríngeo, al mismo que llegaron en condiciones adecuadas, se efectuó la prueba de cultivo mediante el uso de sangre de cordero, ya que mediante sus propiedades permitió demostrar la bacteria, permitiendo identificar un caso de *Streptococcus pyogenes* que corresponde a un niño de 13 años de edad.

DETERMINAR LA PRESENCIA O AUSENCIA DEL ANTÍGENO CARBOHIDRATADO DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES*, A TRAVÉS DE UN INMUNOENSAYO CUALITATIVO.

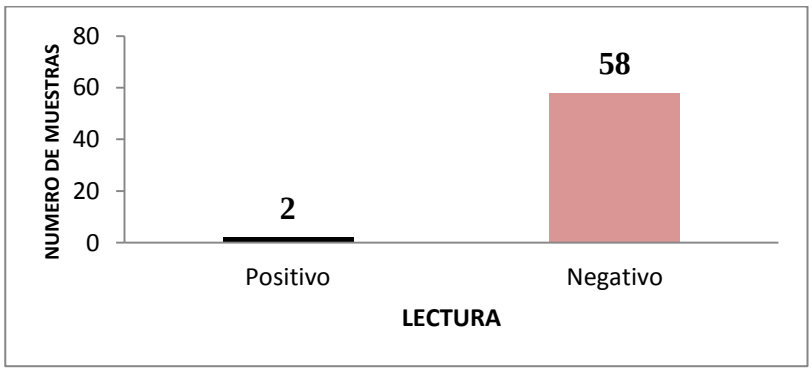
Tabla N° 2

Prueba rápida de antígeno carbohidratado en casete

Variable	Frecuencia	Porcentaje
Positivo	2	3%
Negativo	58	97%
Total	**60**	**100%**

Fuente: Registro de resultados de la investigación
Elaborado por: Fabián Díaz

Gráfica N° 1. ***Resultado en casete***



Fuente: Registro de resultados de la investigación
Elaborado por: Fabián Díaz

Interpretación. Del total de los resultados de 60 muestras de pacientes que corresponden al 100% la prueba rápida inmunocromatográfica cualitativa en casete, dio como resultado 2 muestras positivas correspondiendo al 3%, mientras que el 97% presentó resultado negativo para *Streptococcus pyogenes.*

Análisis. La prueba en casete inmunocromatográfica se la efectúa inmediatamente de tomar un hisopado faríngeo, permite un resultado confiable y rápido que sería de utilidad para un diagnóstico preciso y ambulatorio y a la vez sirva de guía al médico tratante.

COMPARAR LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD ENTRE EL INMUNOENSAYO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y LA PRUEBA DE CULTIVO PARA DETECTAR *STREPTOCOCCUS PYOGENES*.

Tabla N° 3

Especificidad y sensibilidad de prueba rápida inmunocromatográfica y prueba de cultivo

Variable	Inmunoensayo inmunocromatográfico	Cultivo
Positivo	2	1
Negativo	58	59
Total	**60**	**60**

Fuente: Registro de resultados de la investigación
Elaborado por: Fabián Díaz

Porcentaje de las variables en ambas pruebas realizadas

		Prueba inmunocromatográfica	Cultivo
Sensibilidad	P+Enfermo	50%	100%
Especificidad	P-Sano	98%	100%
Valor predictivo positivo	P-Enfermo	50%	100%
Valor predictivo negativo	P+Sano	98%	100%

Fuente: Registro de resultados de la investigación
Elaborado por: Fabián Díaz

Interpretación. En cuanto al análisis se determinó para la prueba de casete una sensibilidad de 50%, una especificidad de 98%; un valor predictivo positivo del 50%, un valor predictivo negativo del 98%; mientras que en la prueba de cultivo se identificó una sensibilidad y especificidad del 100%, un valor predictivo positivo y negativo del 100%.

Análisis. Del total de las 60 pacientes realizadas los análisis, 2 personas presentaron positivo para la prueba de casete, y una persona presento positivo para la prueba de cultivo.

COMPARACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA DE INMUNOENSAYO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y EL CULTIVO.

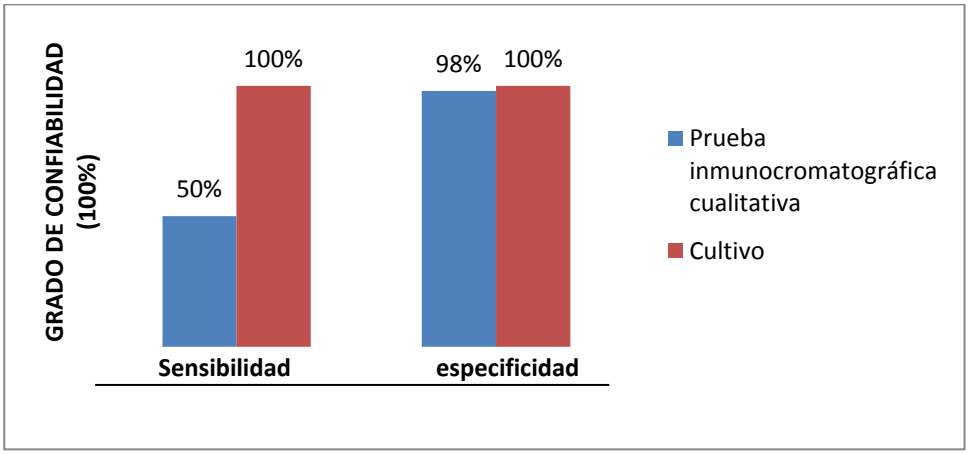
Tabla N° 4

Comparación de la sensibilidad y especificidad

Pruebas	Sensibilidad	Especificidad
Prueba inmunocromatográfica cualitativa	50%	98%
Cultivo	100%	100%

Fuente: Registro de resultados de la investigación
Elaborado por: Fabián Díaz

Gráfica N° 2. *Comparación de sensibilidad y especificidad en cultivo y prueba inmunocromatográfica cualitativa*



Fuente: Registro de resultados de la investigación
Elaborado por: Fabián Díaz

Interpretación. Del total de las 60 muestras efectuadas para el análisis comparativo entre los dos tipos de pruebas, se obtuvo como resultado que la prueba de cultivo presentó una sensibilidad del 100% y una especificidad del 100%; mientras que la prueba de casete mostró una sensibilidad del 50% y una especificidad del 98%.

Análisis. La prueba rápida inmunocromatográfica es especifica pero no sensible con respecto al cultivo.

7. DISCUSIÓN

El grado de efectividad de una prueba de inmunoensayo cualitativa resulta de cómo se efectúa la toma de muestras de un exudado faríngeo y en qué condiciones debe llegar el paciente de ello dependerá un resultado confiable, de igual manera la verificación del casete que se encuentre en condiciones óptimas en cuanto a su almacenamiento y fecha de caducidad juega un papel muy importante para asegurar los resultados; seguido de una manipulación y métodos técnicos bien establecidos. Si se cumplen estos parámetros serán de gran ayuda para el médico, si dichos exámenes requieren un resultado rápido para un tratamiento oportuno, tratando de constatar posteriormente con la prueba de cultivo en un periodo de tiempo más prolongado. La prueba diagnóstica rápida es utilizada para diferentes fines como: tamizaje de una población, búsqueda de casos, descarte de un diagnóstico, confirmación de un diagnóstico o seguimiento de una patología (Donis, (2012).

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, se infiere que la prueba rápida es un método sencillo para contribuir a un diagnóstico eficaz de la faringoamigdalitis estreptocócica en consultas ambulatoria o de emergencias, se obtuvo como resultado de la prueba rápida inmunocromatográfica una sensibilidad de 50% y una especificidad de 98% frente al cultivo con una sensibilidad de 100% y una especificidad de 100%; los resultados obtenidos guardan relación con Peñaranda & Peñaranda (2012), en la que 16 pacientes, diagnosticados con faringoamigdalitis, en 10 pacientes (62%) fue positiva la prueba rápida inmunocromatográfica para *Streptococcus pyogenes*. El cultivo realizado, confirmó *Streptococcus pyogenes* en los 10 pacientes que se realizó la prueba rápida manifestando que se puedo constatar que la prueba inmunoensayo cualitativo inmunocromatográfico presenta un alto porcentaje de confiabilidad para la detección de

Streptococcus pyogenes. Mediante estos datos obtenidos se puede decir que la prueba de casete es muy específica pero con una sensibilidad reducida, valores que guardan relación con la prueba de oro el cultivo ya que se la puede aplicar como un método de confirmación de un diagnóstico rápido.

Según Donis (2012) la Asociación Española de Pediatría, determinó que en un paciente con faringitis aguda es necesario descartar la presencia de *Streptococcus pyogenes* como agente etiológico, pero el cultivo suele demorarse 48 horas o más, y al no disponer de métodos rápidos de diagnóstico, se tiende a administrar tratamiento empírico. El tratamiento antibiótico inadecuado supone un coste económico innecesario, puede ocasionar efectos secundarios y también contribuye a que aparezcan resistencias bacterianas a determinados antibióticos. Por tanto, la faringitis estreptocócica no constituye únicamente un problema sanitario que afecta a muchas personas, sino que también supone un coste económico y social importante. Por todo ello, es de interés elaborar una revisión sistemática de la literatura sobre la eficacia y seguridad de estas técnicas rápidas de detección del antígeno de *Streptococcus pyogenes* a partir de exudado faringoamigdalar. En cuanto a los resultados expuestos por dicha asociación estableció lo siguiente, una sensibilidad comprendida entre 65,6–96,4%; la especificidad osciló entre 68,7 y 99,3%; el valor predictivo positivo tuvo un rango de 59,4–97,4%, y el valor predictivo negativo entre 87,8–98%., comparando con los resultados obtenidos en la presente investigación para la determinación de la prueba inmunocromatográfica cualitativa en casete guardando cierta relación con una sensibilidad de 50%; una especificidad de 98%, valor predictivo positivo de 50% y un valor predictivo negativo de 98%.

De acuerdo al estudio realizado por García & Esparza (2015) en 48 pacientes la estimación global de la sensibilidad de la prueba rápida fue de 86% con variabilidad en el

resultado final, mientras que en la especificidad mostró un valor del 96%, guardando relación con los resultados obtenidos en la presente investigación, tomando en cuenta la variación que presenta los datos en lo que corresponde a la sensibilidad, en consecuencia las pruebas rápidas inmunocromatográficas pueden utilizarse en el diagnóstico preciso de la faringitis por *Streptococcus pyogenes* en atención primaria con suficiente precisión como para prescindir de la realización de cultivo en caso de test negativo.

Mediante él estudio realizado por Hernández (2010) en 263 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión en cuanto a la utilización del test rápido, se obtuvo una sensibilidad de 91% y una especificidad de 87%, presentando diferencia en la presente investigación con una sensibilidad del 50% y una especificidad del 98%, determinando que existió en la sensibilidad un aproximado del 41% de diferencia y una especificidad del 11%, constatando que la prueba de casete es mucho más específica.

Del estudio efectuado por Pérez (2014), aplicando la prueba de casete, con una muestra de 298 pacientes, la presencia de faringitis estreptocócica fue del 42.3% con una sensibilidad del 96%, no utilizando ningún método de referencia para realizar dicho estudio. Comparando con los resultados obtenidos en la presente investigación, empleando una muestra de 60 pacientes bajo el mismo método el resultado de la sensibilidad fue del 50%.

8. CONCLUSIONES

- Se determinó una sensibilidad y especificidad de prueba de cultivo del 100%, y en cuanto al inmunoensayo cualitativo inmunocromatografico reflejo una sensibilidad del 50% y una especificidad del 98%.

- Se pudo establecer el crecimiento bacteriano a través de la prueba del cultivo empleando agar sangre de cordero, la misma que reflejó la presencia de *Streptococcus pyogenes* en un paciente de 13 años de edad que corresponde al 2%; así mismo con mayor incidencia se presentó desarrollo de microbiota faríngea en 56 pacientes de todas las edades que corresponde al 93%, seguido de 3 casos sin crecimiento bacteriano en 48 horas que corresponden al 5%.

- Se determinó la presencia de antígeno carbohidratado de *Streptococcus pyogenes* en dos pacientes, uno corresponde a un niño de 13 años de edad y el otro de 9 años de edad, y la ausencia de este antígeno en 58 muestras analizadas de 60 pacientes.

- Se estableció una Sensibilidad de 50% y una especificidad de 98% para la prueba inmunocromatográfica cualitativa; mientras que para la prueba de cultivo presentó una sensibilidad y especificidad del 100%.

9. RECOMENDACIONES

- Se recomienda que para efectuar un cultivo de un sembrado de exudado faríngeo lo idóneo es emplear el uso de agar sangre de cordero, y realizar el estriado en presencia de cabina de bioseguridad, para evitar contaminación del mismo y no interfiera en los resultados.

- Es recomendable que el hisopo que se va a utilizar para efectuar la prueba de casete no entre en contacto con superficies contaminadas del exterior y se encuentre debidamente estéril antes de introducirlo a la boca del paciente.

- Verificar la fecha de caducidad del casete antes de proceder a realizar la prueba, así mismo sacar el casete del protector plástico en el momento de colocar las gotas que contienen la mezcla de la muestra y el reactivo.

- Es recomendable que el técnico de laboratorio al momento de realizar el hisopado debe ser en las amígdalas y evitar que el hisopo entre en contacto con los carrillos, paladar y lengua, evitando así falsos resultados.

- Realizar un estriado lo bastante distanciado para poder diferenciar las colonias presentes y el tipo de hemolisis que se produce.

- Mantener discos y agares en refrigeración 2-8 ° C, antes y después de su uso para que no se pierdan sus propiedades y el diagnostico sea más confiable.

10. BIBLIOGRAFÍA

Álvez, G. F., & Sánchez, L. J. (2016). *Faringoamigdalitis aguda.* Obtenido de Servicio de Pediatría. Hospital Clínico Universitario Santiago de Campostela, Protocolos diagnóstico-terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica: http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/faringoamigdalitis.pdf

Casado, G. M., Torrico, C. G., & Medina, A. M. (2012). *Medios de cultivo en un laboratorio de Microbiología.* Obtenido de https://libroslaboratorio.files.wordpress.com/2012/09/medios-de-cultivo-en-un-laboratorio-de-microbiologc3ada.pdf

Contreras, R. (Noviembre de 2012). *Tinción GRAM*. Obtenido de La Guía, Biología: https://biologia.laguia2000.com/histologia/tincion-gram

Cuevas, R. C., & Alejo, M. A. (2010). *Validez y fiabilidad de las medidas de exposición y medición.* Obtenido de Universidad Nacional Autonoma de México, Facultad de Psicología: http://www.psicol.unam.mx/Investigacion2/pdf/SENSIBILIDAD%20Y%20ESPECIFICIDAD.pdf

De Taboada, V. C. (2008). *Identificación y patrón de sensibilidad de patógenosgram positivos en muestras de secreción faringea en niños con faringitis y faringoamigdalitis aguda del servicio de pediatría del Hospital Regional Arequipa"Julio Pinto Manrique" XI - Dirtepol 2007-2008.* Obtenido de Universidad Católica de Santa Maríafacultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y biotecnológicas: https://es.scribd.com/doc/2924180/TESIS-CLAUDIA-FINAL

Dirección Provincial de Salud Zonal 7. (s.f.). *Ministerio de Salud Pública*. Obtenido de https://es-la.facebook.com/pg/SaludEcuadorCoordinacionZona7/posts/.

Donis, J. H. (Julio-Diciembre de (2012). *Evaluación de la validez y confiabilidad de una prueba diagnóstica.* Obtenido de Publicación Oficial del Instituto de Inmunología Clínica; Mérida-Venezuela. Volumen 1(2), p 73-81: https://www.redalyc.org/html/3313/331328015005/

Escobar, I. A. (2008). *Deteccion del estreptococo beta hemolitico para el diagnostico precoz de la fiebre reumatica.* Obtenido de Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas: http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/701/1/Tesis%20-%20Isabel%20Argudo%20Escobar.PDF

Facundo, M. C. (2016). *Exudados.* Obtenido de http://exudadosfaringeo.blogspot.com/2016/12/exudados.html

García, V. C. (Enero de (2014). *Utilidad del Test rápido de detección de antigeno streptocócico TRDA en el abordaje de la faringoamigdalitis aguda en pediatría.* Obtenido de Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria: https://www.aepap.org/sites/default/files/gpi_utilidad_trda_estreptoccico.pdf

García, V. C., & Esparza, O. M. (Marzo de (2015). *Se debería disponer de un test rápido de detección de antígeno estreptocócico en atenión primaria pediátrica.* Obtenido de EvidPediatr;11:25: https://evidenciasenpediatria.es/files/41-12719-RUTA/025AVC.pdf

Hernández, F. M., García, H. M., Lupiani, C. P., Gonzalez, C., Mendez, C. M., Hernandez, M. D., & Pérez, C. J. ((2010). *En época de crisis ¿sería rentable invertir en la implantación del test de estreptococo en la consulta de atención primaria?* Obtenido de Can Pediatr; 34 (1) : 19-24: http://portal.scptfe.com/wp-content/uploads/2017/10/Estreptococo_Fraga.pdf

Jawetz, Melnick, & Adelberg. (2010). *Microbiología médica.* (S. d. McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, Ed.) Obtenido de 25a. Edición: http://redlagrey.com/files/Microbiologia_Medica_Jawetz_25_www.rinconmedico.smffy.com.pdf

Llapa, Y. L., Luna, C. J., & Macao, C. M. (2013). *Prevalencia de faringoamigdalitis aguda estreptocócica mediante el test de detección rápida del antígeno de estreptococo beta hemolítico y los factores asociados en pacientes en 5-19 años en el Centro de Salud N° 1 julio - septiembre, Cuenca 2013.* Obtenido de Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Médicas: http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/5304/1/MED229.pdf

MacFaddin. (2003). *Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias.* Obtenido de Capítulo 31, Editorial médica Panamericana, 3ra. edición: https://books.google.com.ec/books?id=FYWSzy7EjR0C&pg=PA342&lpg=PA342&dq=prueba+optoquina+principio&source=bl&ots=RONJRcHeRr&sig=OiykBtvcqLNBmWfnD2vqtaG9d8Y&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjw9974ifreAhXGylMKHULUDikQ6AEwDHoECAAQAQ#v=onepage&q=prueba%20optoquina%20pri

Medina, M. C. (2011). *Generalidades de las pruebas diagnósticas, y su utilidad en la toma de decisiones médicas.* Obtenido de Rev. Colomb. Psiquiat., vol. 40 / No. 4: http://www.scielo.org.co/pdf/rcp/v40n4/v40n4a15.pdf

Pascual, M. M. (2017). *Mecanismos de patogenicidad de Streptococcus pyogenes.* Obtenido de Universitat de les Illes Balears: http://dspace.uib.es/xmlui/bitstream/handle/11201/146041/Pascual_MariadelMar.pdf?sequence=1

Peñaranda, I. (2012). *Prueba rápida para detección de Streptococcus pyogenes.* La paz: Panamericana.

Peñaranda, P. I., & Peñaranda, L. M. (3 de Abril de 2012). *Prueba rápida para detección de Streptococcus pyogenes en faringoamigdalitis.* Obtenido de Rev. bol. ped. v.51 n.1. La Paz: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-06752012000100003

Pérez, G. A. ((2014). *Utilidad de una técnica antigénica rápida en el diagnóstico de faringoamigdalitis aguda por Streptococcus pyogenes en población pediátrica.* Obtenido de Universidad de Oviedo, Programa de Doctorado: Ciencias de la Salud: http://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/38934/1/TD_AlejandroPerez.pdf

Pita, F., & Pértegas, D. S. (2010). *Pruebas diagnósticas: Sensibilidad y especificidad.* Obtenido de Cad Aten Primaria; 10: 120-124.: https://www.fisterra.com/mbe/investiga/pruebas_diagnosticas/pruebas_diagnosticas.asp

Poveda, J. M. (s.f.). *Recopilación de información a través de encuestas, método no instructivo.* Obtenido de Ingeniería de requerimientos: https://es.slideshare.net/jmpov441/recopilacin-de-informacin-parte-2

Restrepo, L. M., Munera, J. M., Ramírez, P. B., & Acuña, R. C. (Septiembre de 2012). *Infección y colonización faríngea asintomática de niños por Streptococcus pyogenes.* Obtenido de Iatreia Vol. 25 (3): 203-209: http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v25n3/v25n3a03.pdf

Ruiz, A. J., Rodríguez, L. r., & Molina, L. J. (2010). *Evaluación de los métodos rápidos para la detección de Streptococcus pyogenes. Revisión sistemática y metaanálisis.* Obtenido de An Pediatr (Barc); 72(6): 391-402: http://www.analesdepediatria.org/es-evaluacion-los-metodos-rapidos-deteccion-articulo-S1695403310000780

S.L, L. C. (2003). *Cromatest Strep A CE.* Obtenido de España - Barcelona: http://www.linear.es/ficheros/archivos/840_4280225StrepAcassette25tcas.pdf

Santambrosio, E., Ortega, M., & Garibald, P. (2009). *Tinción y observación de microorganismos.* Obtenido de Universidad Tecnologica Nacional,Facultad Regional Rosario: https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practico4.pdf

UdeA. (2000). *Universidad de Antioquia.* Obtenido de Tinciones especiales de microbiología: http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/231237/mod_resource/content/0/2._PRACTICA_TINCIONES_ESPECIALES_EN_MICROBIOLOGIA.pdf

Valencia, C. I. (2009). *Evaluacion de medios de cultivo para el aislamiento de streptococo pyogenes enpacientes con diagnóstico clinico de faringoamigdalitis* . Obtenido de Universidad Mayor de San Andrés, Faculad de Ciencias Farmaceúticas y Bioquímicas, La Paz Bolivia: http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/437/TE654.pdf?sequence=1

11. ANEXOS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 1

EQUIPOS EMPLEADOS EN EL MUESTREO

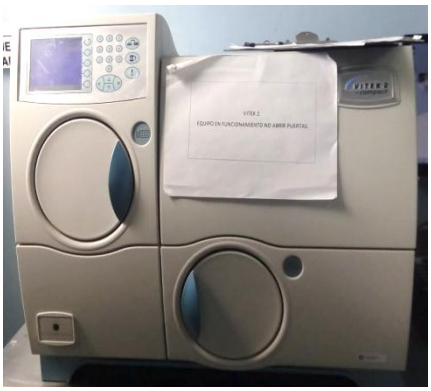


Fig. 1 Equipo automatizado VITK 2

Fig. 2 Microscopio óptico

Fig.3 Estufa de cultivo

UBICACIÓN DEL LUGAR DE MUESTREO

Fig.4 Hospital regional Isidro Ayora de Loja

https://www.google.com.ec/search?biw=1136&bih=782&tbm=isch&sa=1&q=3+Hospital+regional+Isidro+Ayora+de+Loja&oq=3+Hospital+regional+Isidro+Ayora+de+Loja&gs_l=psyYVjLRc#imgrc=0uqtK3Jt0MzcYM.

Fig.5 Croquis de la ubicación del Hospital Isidro Ayora

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 2

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA

Hospital General Isidro Ayora
Docencia e Investigación

Memorando Nro. MSP-CZ7-HIAL-DI-2018-0130-M

Loja, 27 de abril de 2018

PARA: Sr. Ing. Byron Xavier Guerrero Jaramillo
Gerente del Hospital General "Isidro Ayora"

Sr. Fabian Dario Diaz Sinche

ASUNTO: Oficio Sr Fabian Dario Diaz Sinche solicitando autorización a realizar proyecto de tesis

De mi consideración.

Al analizar el pedido del Sr. estudiante Fabián Dario Sinche y en vista de que adjunta la aprobación del tema de tesis de la Universidad , SE AUTORIZA que el Sr. estudiante realice su tesis en este hospital

---

Favor verificar pertinencia y dar trámite que corresponda de acuerdo a la ley y normativa vigente.

En respuesta al Documento No. MSP-CZ7-HIAL-UAU-2018-0354-E

Adjunto Oficio de fecha 18 de Septiembre de 2017 del Sr Fabian Dario Diaz Sinche estudiante de la Carrera de Laboratorio Clinico solicitando autorización a realizar proyecto de tesis CULTIVO DE ESTREPTOCOCO PYOGENES VS PRUEBA DE INMUNOENSAYO ECUALITATVA EN PACIENTES CON EXUDADO FARINGEO. Sin anexos

Con sentimientos de distinguida consideración

Atentamente,

HOSPITAL GENERAL "ISIDRO AYORA" COORDINACIÓN DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN

Dra. Lilia Dora Rudova Davila
RESPONSABLE DEL PROCESO DE GESTIÓN DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN

Av. Manuel Agustín Aguirre y Juan José Samaniego
Código Postal: 110103 Teléfono: 593 (7) 2570540
instituciones.msp.gob.ec/cz7/

1/2

Loja, 07 de Agosto del 2018

Lic.
Carlos Becerra González
RESPONSABLE DEL SERVICIO DE LABORATORIO CLINICO DEL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA

Ciudad.-

Certificación:

Certifico que el Sr. **Fabián Darío Díaz Sinche** portador de cédula número **1104854623** elaboró el muestreo realizado en el laboratorio de microbiología iniciado desde el 4 junio hasta el 31 de julio del año 2018, correspondiente al tema de Tesis " **CULTIVO DE ESTREPTOCOCOS PYOGENES VS PRUEBA DE INMUNOENSAYO CUALITATIVA EN PACIENTES CON EXUDADO FARÍNGEO QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA"**

Es todo cuanto pudo certificar, pudiendo hacer uso del presente certificado de parte del interesado para los fines que crea conveniente

Atentamente

HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA
Laboratorio Clínico
LOJA - ECUADOR

Lic. Carlos Becerra González

RESPONSABLE DEL SERVICIO DE LABORATORIO CLINICO DEL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 3

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Por medio de la coordinación a cargo de la Dra. Sandra Freire, se está realizando el proyecto de titulación: **"CULTIVO DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* VS PRUEBA DEINMUNOENSAYO CUALITATIVA EN PACIENTES CON EXUDADO FARÍNGEO QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA"** El objetivo general de este proyecto es Determinar entre la prueba de cultivo y un inmunoensayo cualitativo inmunocromatográfico, cual brinda el mayor nivel de efectividad para la detección rápida y especifica de *Streptococcus pyogenes* en pacientes con exudado faríngeo que acuden al Hospital Isidro Ayora de Loja.

Yo:…….. **N°:…...…..**

C. I. N°…… Nacionalidad:…….……..

Estado civil:…… Domicilio:…….……

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin que medie coacción ni violencia alguna, en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio indicado declaro mediante la presente:

1. Haber sido informado de manera clara, sencilla por parte del personal de investigadores, todos los aspectos relacionados con el proyecto.
2. Está claro, que mi participación en dicho proyecto es entregar una muestra de exudado faríngeo para analizada y determinar un tratamiento con antibiótico adecuado.

3. Conocer si la bacteria que tengo produce la faringitis estreptocócica, permitirá al médico conocer, que el uso indiscriminado de antibióticos puedan provocar resistencia, de esta manera el médico buscara otras opción terapéuticas más eficaces.

4. Que mi muestra de exudado faríngeo no puede ser utilizada para otros fines sin mí consentimiento informado.

5. Que bajo ningún aspecto podré limitar el uso académico de los resultados adquiridos en la presente investigación.

6. Que mi participación en dicho proyecto no implica riesgos ni inconvenientes para mi salud.

7. Que bajo ninguna circunstancia se me ha ofrecido ni he pretendido recibir ningún beneficio económico producto de los hallazgos que se puedan originar en el proyecto de investigación.

8. En caso de que las pruebas salieran positivas en el cultivo o en el inmunoensayo cualititavo se podrá revisar la historia clínica del paciente para corroborar la existencia de faringitis estreptocócica.

…….. ……

Firma del paciente o representante Firma de un testigo

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 4

PROTOCOLO DE EXUDADO FARÍNGEO

Condiciones que el paciente debe presentar para la toma de muestra:

- ✓ Asistir a la toma de muestras de exudado faríngeo las primeras horas de la mañana (7 am)
- ✓ No consumir alimentos o beber agua antes del proceso de recolección de muestra pueden interferir en los resultados deseados.
- ✓ No hacer uso de enjuagues bucales ya que pueden alterar la flora presente.

Materiales:

- Gradilla
- Tubo de ensayo
- Hisopo
- Suero fisiológico
- Bajalenguas

Procedimiento:

1. Sentar al paciente y colocar su cabeza hacia atrás iluminar bien la cavidad oro faríngea y con un abate lenguas bajar la lengua para facilitar el acceso a la parte posterior de la faringe.

Fig. 6 Toma de muestra de exudado faríngeo

2. Con un hisopo de dacrón o de rayón con mango de plástico, hacer un raspado firme, haciendo girar el hisopo, en las áreas dañadas que deben verse hiperémicas, purulentas o necróticas, evitar tocar la lengua, la úvula o los carrillos.
3. Introducir el hisopo con la muestra en un tubo con tapón de rosca que contenga el medio de transporte adecuado.
4. Eliminación de desechos en sus respectivos contenedores.

Una vez obtenidas las muestras se las transportara de forma ordenada y debidamente etiquetadas a temperatura ambiente para su debido procesamiento (De Taboada, 2008).

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 5

PROTOCOLO DE PRUEBA DE INMUNOENSAYO CUALITATIVA

Observaciones:

- Las muestras serán rechazadas cuando el hisopo ha entrado en contacto con la lengua, encías o superficie de los dientes, o si no se ha tomado una suficiente cantidad de secreción en la zona de las amígdalas.
- Un resultado positivo Aparecen 2 bandas coloreadas, una debe aparecer en la región de Control (C) y otra línea debe estar en la región de ensayo (T). Este resultado positivo significa que el antígeno de estreptococo A fue detectado en la muestra.
- Un resultado negativo una banda de color aparecerá en la región de control (C).No debe aparecer ninguna línea coloreada en la región (T) de la prueba. Un resultado negativo indica que el antígeno Strep A no está presente en la muestra o está presente por debajo de niveles detectables de la prueba.
- Desechar casete que se encuentren fuera de la fecha de caducidad
- Colocar una cantidad adecuada de muestra en el casete para evitar falsos resultados
- Mantener a temperatura ambiente el casete por 5 minutos antes de proceder a realizar el procedimiento respectivo.

Materiales:

- Muestra de exudado faríngeo

- 1 casete Strep A
- Recipiente para desechos infecciosos
- Cronómetro

Verificar que el kit donde se encuentran presentes los casete no se encuentren caducados; seguidamente temperar el casete, reactivos, la muestra de frotis y controles a la temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar el ensayo. Leer las indicaciones dentro del inserto.

Proceso:

1. Retirar el casete del interior del sobre de aluminio y utilizar inmediatamente.

Fig. 7 Kit de prueba rápida

2. Preparar un tubo de extracción y dispensar 4 gotas (aprox. 240 µl) de Reactivo A.
3. Adicionar 4 gotas (aprox. 240 µl) del Reactivo B (incoloro) mezclar el contenido agitando suavemente el tubo. Dejar reposar un mínimo de 1 minuto y un máximo de 15 min.

Fig. 8 Adición de reavtivo A y B

4. Sumergir el escobillón con el frotis de garganta y agitar unas 10 veces. Presionar la parte inferior del escobillón contra la pared del tubo exprimirlo bien y retirar. Desechar el escobillón una vez usado.

Fig. 9 Mezcla de muestra con reactivos

5. Colocar el gotero en la parte superior del tubo de extracción.
6. Situar el casete sobre una superficie plana y limpia, y dispensar 3gotas del tubo (aprox. 100 µl) dentro del pocillo (S) y empezar a cronometrar.

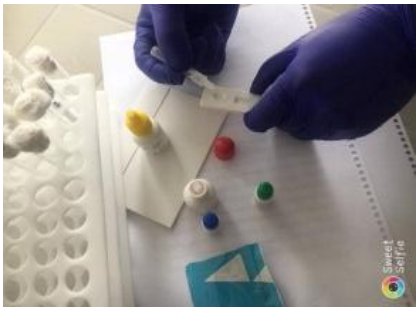


Fig. 10 Dispensación de muestra en el casete

7. Esperar a que aparezcan las líneas rojas. Leer los resultados en 5 minutos. No leer transcurridos 10 minutos.
8. Proceder a desechar el casete en su respectivo contenedor para infecciosos. (S.L, 2003)

INSERTO

Cromatest LINEAR Chemicals, S.L.

Strep A CE

PRESENTACION			
REF	4280225	Strep A	25 tests
Sólo para uso profesional de diagnóstico *in vitro*			

Strep A

Prueba rápida para la detección cualitativa del antígeno Strep A en muestras de frotis de garganta.

ONE STEP

FUNDAMENTO

Strep A cassette, es un ensayo cualitativo inmunocromatográfico para la detección del antígeno carbohidrato de *streptococcus A*, en frotis de garganta.
La membrana inmunocromatográfica lleva incorporado el anticuerpo específico de este antígeno en la zona T de test.
En el ensayo, las muestras procedentes del frotis de garganta migran y reaccionan con el anticuerpo específico *anti-streptococcus A* generando una banda coloreada en la región T del cassette. En consecuencia, la presencia de una banda coloreada en la región T indica un resultado positivo, mientras que la ausencia, indica un resultado negativo. Una banda colreada en la zona C de Control, indica que el ensayo se ha realizado correctamente. De no aparecer esta banda, los resultados del ensayo no son válidos.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

Strep A cassette contiene un anticuerpo *anti-streptococcus A* específico.

CONTENIDO DEL ENVASE

REF 4280225

- 25 Cassettes
- Tubos de extracción desechables
- Goteros
- Escobillones estériles (Dacron)
- Reactivo A (Sodium Nitrite 2 mol/L)

T Toxico
R25: Toxico por ingestión

- Reactivo B (Acetic acid 0,4 mol/L)
- Control Positivo (Strep A Ag); 0.1% NaN_3
- Control Negativo (Strep A Ag); 0.1% NaN_3
- Gradilla de plástico

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-30ºC.
Estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se mantenga el sobre correctamente sellado hasta su uso. NO CONGELAR. No usar una vez superada la fecha de caducidad.

MUESTRAS Y PREPARACION

Recolectar las muestras de frotis de garganta con el escobillón incluido. Frotar la faringe posterior, amígdalas y otras áreas inflamadas. Evitar tocar la lengua, la parte interna de los pómulos y los dientes con el escobillon.[3]
Es conveniente realizar el ensayo inmediatamente después de la recolección de las muestras. Las muestras del escobillón pueden almacenarse en un tubo plástico seco y limpio 8 horas a temperatura ambiente o 72 horas a 2-8ºC.

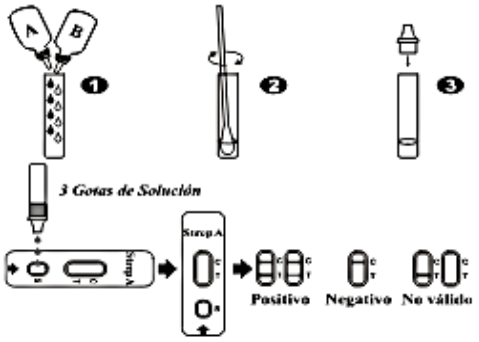
EQUIPO ADICIONAL

- Cronómetro.

TECNICA

Atemperar el cassette, reactivos, la muestra de frotis y/o controles a la temperatura ambiente (15-30ºC) antes de realizar el ensayo.

1. Retirar el cassette del interior del sobre de aluminio y utilizar inmediatamente.
2. Preparar un tubo de extracción y dispensar **4 gotas** (aprox. 240 µl) de Reactivo A.
3. Adicionar **4 gotas** (aprox. 240 µl) del Reactivo B (incoloro)
   Mezclar el contenido agitando suavemente el tubo. Ver ilustración 1.
   Dejar reposar un mínimo de 1 minuto y un máximo de 15 min.
4. **Inmediatamente después, sumergir el escobillón con el frotis de garganta** y agitar unas **10 veces**. Presionar la parte inferior del escobillon contra la pared del tubo exprimirlo bien y retirar. Desechar el escobillón una vez usado. Ver ilustración 2.
5. Colocar el gotero en la parte superior del tubo de extracción.
6. Situar el cassette sobre una superficie plana y limpia, y dispensar **3 gotas** del tubo (aprox. 100 µl) dentro del pocillo (S) y empezar a cronometrar.
7. Esperar a que aparezcan las líneas rojas. Leer los resultados en 5 minutos. No leer transcurridos 10 minutos.



POSITIVO:* Aparecen 2 bandas coloreadas. Una debe aparecer en la región de Control (C) y otra línea debe estar en la región de ensayo (T). Este resultado positivo significa que el antígeno de Streptococcus A fue detectado en la muestra.

***NOTA:** una sombra de color en la región de la banda de ensayo (T) variará dependiendo de la concentración del antígeno de Streptococcus A presente en la muestra. Cualquier sombra de color en la región de la línea de ensayo (T) puede ser considerada positiva.

NEGATIVO: Una banda de color aparecerá en la región de control (C). No debe aparecer ninguna línea coloreada en la región (T) de la prueba. Un resultado negativo indica que el antígeno Strep A no está presente en la muestra o está presente por debajo de niveles detectables de la prueba.

NO VALIDO: No aparece banda coloreada la región de control (C). Volúmenes insuficientes de muestra o procedimientos incorrectos son las mayores razones de error en la banda de control. Revise el procedimiento y repita la prueba utilizando una nueva tira de prueba. Si el problema persiste, deje de usar la prueba inmediatamente y contacte a su distribuidor local.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 6

PROCEDIMIENTO PARA LA TINCIÓN DE GRAM

a. **Definición:** La tinción de Gram se lo emplea con la finalidad de visualizar la presencia de bacterias causantes de la faringitis. En ella se destaca la morfología celular bacteriana, que permite diferenciarlas como bacterias grampositivas de un color morado fuerte, y bacterias gramnegativas de color rosado.

b. **Objetivo:** Visualización de la morfología de las bacterias catalogándolas como grampositivas.

c. **Equipos – materiales:**

- 1 portaobjetos
- 1 mechero
- Cristal violeta
- Lugol
- Solución alcohol-cetona
- Safranina
- Aceite de inmersión
- Microscopio óptico de campo claro
- Cronómetro

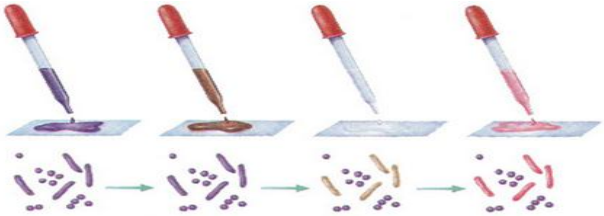


Fig. 11Colocación de reactivos

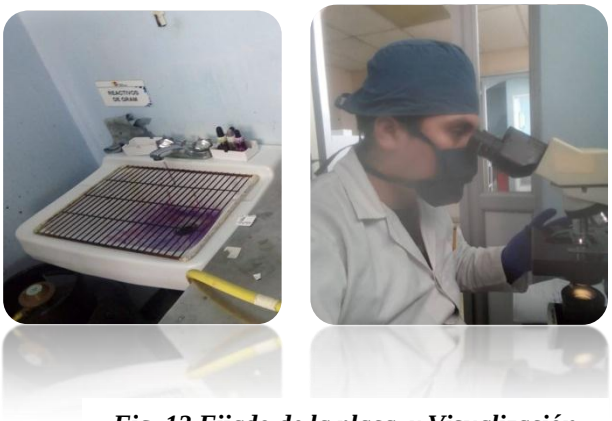


Fig. 12 Fijado de la placa y Visualización de la tinción de Gram en el microscopio

d. Procedimiento:

1. Coger una colonia del medio y realizar un frotis en un porta objetos, fijarlo en todo momento en calos
2. Poner en el frotis efectuado como primer reactivo la violeta de genciana por 1 minuto, y posteriormente lavar con agua de la llave.
3. Colocar por 1 minuto lugol y lavar.
4. Aplicar alcohol cetona por 1 minuto y lavar.
5. Colocar safranina diluida por 1 minuto, lavar y posteriormente dejarlo secar.
6. Observar en el microscopio óptico con lente de 100x utilizando para su enfoque aceite de inmersión.

e. Observaciones:

- Utilizar en todo momento el equipo de protección personal.
- Lavar las placas con agua destilada (UdeA, 2000).

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 7

PROTOCOLO PRUEBA DE CULTIVO FARÍNGEO

Se utiliza habitualmente para diagnosticar infecciones bacterianas en la garganta. Estas infecciones pueden incluir amigdalitis o faringitis estreptocócica. Permite detectar la presencia de microorganismos en muestra de exudado faríngeo.

Observaciones:

- Al elaborar los medios de cultivos dentro de la cámara de flujo laminar y las respectivas estrías realizarlo en presencia del mechero encendido**.**
- Un resultado normal o negativo estará dado por la ausencia de bacterias o microorganismos patógenos sobre el agar después del tiempo de incubación.
- Un resultado positivo o anormal en un cultivo significa la presencia de colonias beta hemolisis caracterizada por una coloración blanda sobre la superficie del agar.

Equipos y materiales:

- 1 cajas Petri
- Lámpara de alcohol
- Agar Sangre
- Asa de platino
- porta objetos
- Espátula
- Cinta maskik

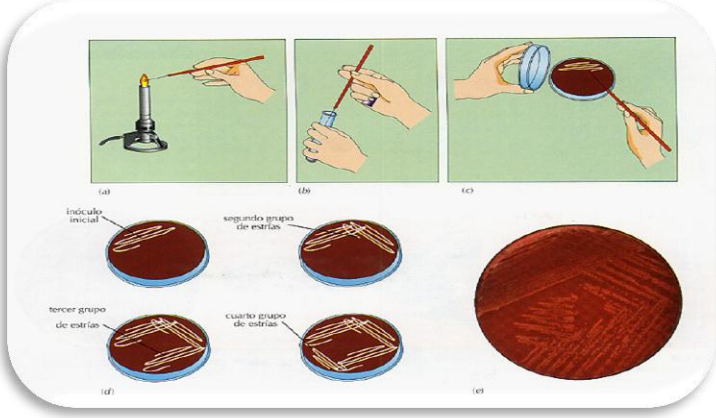


Fig. 13 Preparación del sembrado en Agar sangre

- Matraz
- Gradilla

- Gram directo
- Microscopio
- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Incubadora
- Balanza analítica
- Refrigeradora (6 – 8 º C)
- Cronometro

Fig. 14 Materiales de microbiología para cultivo

a) Procedimiento:

- Realizar un frotis faríngeo a través de la tinción de Gram, aplicando cristal violeta por un minutos lavamos, el lugol por 1 minuto lavamos, seguidamente colocamos el alcohol cetona por 30 segundos y lavamos, finalmente se añade la safranina por 1 minuto pasado este periodo de tiempo se procede a lavar.
- Utilizar sangre de carnero al 5%. Seguidamente se procede a rotular el material empleado y el plato de Agar sangre de carnero.
- Tomar el hisopo que contiene la muestra e inocular cerca de la sexta parte del plato o caja Petri de forma redonda. Se hace girar el hisopo sobre la superficie del Agar de modo que toda la superficie del hisopo entre en contacto con el Agar.
- dejar secar el inoculo durante 5 minutos.
- Proceder a realizar las estrías en los medios de forma convencional.
- Utilizando una asa redonda de 3 a 4 estrías a profundidad para observar la beta hemolisis con mayor facilidad, para ello se introduce el asa hasta el fondo del plato en forma perpendicular a la superficie.

- incubar de 35- 37º C durante 18 a 24 horas en ambiente 5% de CO2 o incubadora.
- Realiza la eliminación de los desechos en cada uno de sus lugares establecidos de forma ordenada y correcta; así mismo la esterilización de cada uno de los agares presentes en las cajas Petri antes de su eliminación (De Taboada, 2008)

Fig. 15 Sin presencia de bacterias

Fig. 16 Beta hemolisis

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 8

PROTOCOLO DE LA PRUEBA DE LA CATALASA

Técnica e interpretación de la prueba:

El reactivo utilizado en la prueba es el peróxido de hidrogeno al 30%, técnica para efectuar la realización de la prueba:

1. Colocamos una porción de colonia en un portaobjetos con ayuda de un palillo plano.
2. A continuación se coloca una gota de peróxido de hidrogeno sobre la porción de colonia presente en el portaobjetos.
3. Posteriormente con un palillo plano procedemos a mesclar la gota hasta la visualización de la presencia o ausencia de burbujas de oxígeno (De Taboada, 2008).

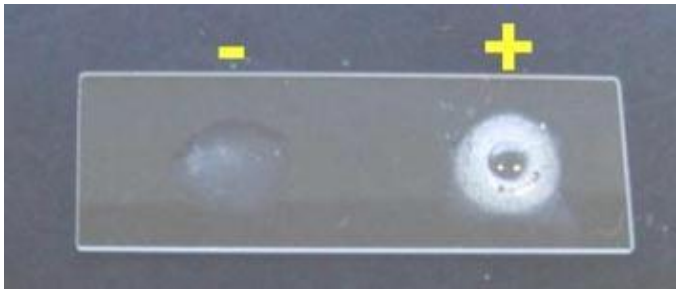


Fig. 17 Prueba de catalasa negativa y positiva

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 9

PROTOCOLO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS

PRUEBA DE BACITRACINA

Materiales:

- Hisopo
- Agua destilada
- Caja Petri
- Disco de Bacitracina
- Microorganismo en placa de agar sangre
- Mechero

Procedimiento de siembra:

- ✓ Realizar una suspensión del microorganismo en estudio (de turbidez igual a la del estándar 0.5 de la escala de Mac Farland).
- ✓ Mediante la técnica de hisopado en superficie, inocular el microorganismo en estudio en una placa de Agar Sangre.
- ✓ Colocar un disco de Bacitracina de 0,04 U sobre la superficie del agar.
- ✓ Incubación en atmósfera 5-10% de CO, a 35-37 ºC durante 24 horas.

Lectura:

- **Sensible:** Presencia de halo de inhibición (independientemente del diámetro) del desarrollo alrededor del disco. Informar: estreptococo beta hemolítico presuntivamente del grupo A por la prueba de bacitracina.
- **Resistente:** Ausencia de halo de inhibición del desarrollo alrededor del disco. Informar: estreptococo beta hemolítico que presuntivamente no pertenece al grupo A por la prueba de bacitracina (De Taboada, 2008).

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 10

PROTOCOLO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS

PRUEBA DE LA OPTOQUINA

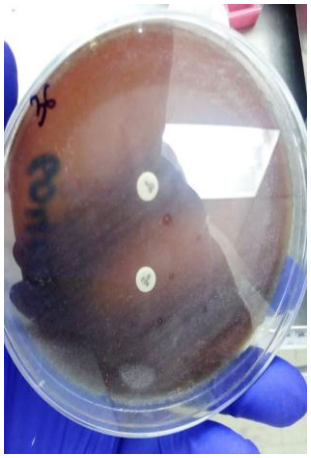
Almacenamiento:

Entre -20 ºC y 0 ºC. Alternativamente a 2-8 ºC durante 7 días

Procedimiento:

Siembra

1. A partir de un cultivo puro del microorganismo en estudio, utilizando un hisopo o un asa de inoculación estéril, inocular una placa de Agar Sangre en las cuatro direcciones para cubrir toda la superficie del medio de cultivo
2. Colocar un disco de Optoquina sobre la superficie del agar.
3. Incubación en atmósfera 5-10% de CO2, a 35-37 ° C durante 18 - 24 horas.



Lectura:

Sensible:

Halo de inhibición del desarrollo microbiano, de diámetro mayor o igual a 14 mm es presuntivo para estreptococo y deben ser confirmadas por pruebas adicionales.

Resistente:

Crecimiento no inhibido alrededor del disco o menor a 14 mm. (De Taboada, 2008).

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 11

REGISTRO DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS

N°	NOMBRE DEL PACIENTE	EDAD	TIPO DE EXAMEN	RESULTADO EN CULTIVO	RESULTADO EN CASETE
1	[redacted]	13	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE ESTREPTOCOCO PYOGENES	POSITIVO
2	[redacted]	9	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	POSITIVO
3	OJEDA SANCHEZ MATIAS ALEJANDRO	2	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
4	LOJAN ARMIJOS ROSA ELENA	67	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
5	URGILES GONZALEZ MATEO SEBASTIAN	11	EXUDADO FARINGEO	SIN CRECIMIENTO BACTERIANO EN 48 HORAS DE INCUBACION	NEGATIVO
6	CURIMILMAVILLA JEREMY ALEXANDER	7	EXUDADO FARINGEO	SIN CRECIMIENTO BACTERIANO EN 48 HORAS DE INCUBACION	NEGATIVO
7	RAMIN JUMBO GUSTAVO DANIEL	19	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
8	JARA TAMAYO EDGAR JAVIER	23	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
9	ARMIJOSCUENCA ALONSO DOMINGO	42	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
10	VALAREZO LEON YOLANDA LUCIA	60	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
11	LOJA ARMIJOS SONIA MARLENE	42	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
12	CONGO QUICHIMBO YEEN MILLER	11	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
13	PADILLA VELEZ EVA PATRICIA	5	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
14	QUIZHPE CABRERA BLANCA CUMANDA	72	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
15	INTRIAGO BRAVO PEDRO EDUARDO	27	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
16	CONDOY AMAY EMILY SARAHI	11	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
17	CABRERA ALVAREZ LUZ VICTORIA	25	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
18	MEJIA GALVAN YELENA ISABEL	32	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
19	DIAZ SARAGURO SARA AGUSTINA	53	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
20	CALVA GONZALEZ SANTIAGO DANIEL	8	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
21	BERMEO LUZURIAGA DAVID ISRAEL	8	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
22	RIVAS FLORES MARIA LORENA	29	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
23	MORA TORRES KEVIN ADRIAN	11	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
24	MEDINA VIÑAMAGUA SEBASTIAN A.	16	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
25	BENAVIDES ZAMBRANO JONATHAN A.	28	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
26	SOLORZANO TAPIA JUNIOR STEVEN	11	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NAGATIVO
27	YANAGOMEZ SARITAMA MARIA E.	70	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
28	ORDOÑEZ PIEDRA MARCEL ORLANDO	11	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
29	CALDERON CALDERON BERTILA	67	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
30	PACHECO RODAS MARIANA DE JESUS	21	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO

31	ESCUDERO BENAVIDES ALBA ESPERANZA	54	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
32	RAMON TAPIA MATHEO JOSUE	5	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
33	VACA AGUILAR LETY FRANCISCA	28	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
34	VASQUEZ PINZON IBSEN JOEL	10	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
35	PASACA GORDILLO LAIDY GABRIELA	27	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
36	MENDOZA ARMIJOS LEOVINA	76	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
37	ULLOA ZHANAY KARLA	9	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
38	GUILLIN GUOLLON CARMEN CECILIA	28	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
39	SOTO ARMIJOS SARAHI JAMILET	10	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
40	DIAS MORENO JULIANA ELIZABETH	25	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
41	MUÑOZ ZAQUINAULA ELITA MERIBEL	44	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
42	COBEÑA CANO TECLA MATILDE	55	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
43	JARAMILLO RAMON FLORA AMADA	71	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
44	RIMACUNA ALVARADO ERICK MATIAS	2	EXUDADO FARINGEO	SIN CRECIMIENTO BACTERIANO EN 48 HORAS DE INCUBACION	NEGATIVO
45	VARGAS RIOS MARIA CRISTINA	24	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE ESTREPTOCOCO PARASIGUENSES	NEGATIVO
46	QUIZHPE GUAMAN LEIRY	9	EXUDADO FARINGEO	CRECIMIENTO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
47	MEDINA RAMIREZ DAVID ALEJANDRO	22	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
48	ARMIJOS CURIPOMA ROSA ANGELICA	55	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
49	ESPINOSA CASTILLO DARWIN RONALDO	10	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
50	RIOFRIO MERINO MARIO JOSE	3	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
51	COSTA AGUIRRE FRANCIS YOVANI	6	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE ESTREPTOCOCO MITIS	NEGATIVO
52	SALINAS ALBERCA ESTEFANIA DEL CISNE	16	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
53	LOZANO GUAMAN JENNY ESMERALDA	52	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
54	CALVA QUIHPE ANGELA ESPERANZA	56	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
55	PADILLA LALANGUI NORMA SULA	46	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE ESTREPTOCOCO PARASANGUINIS	NEGATIVO
56	PULLAGUARI ANGEL RIGOBERTO	43	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
57	DIAZ MORENO AMADOR FABIAN	56	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE ESTREPTOCOCO PARASANGUINIS	NEGATIVO
58	SINCHE FERNANDEZ ESPERANZA A.	57	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
59	MALDONADO DIAZ MATEO DAVID	14	EXUDADO FARINGEO	DESARROLLO DE MICROBIOTA FARINGEA	NEGATIVO
60	GUTIERREZ DELGADO TANIA JACKELINE	54	EXUDADO FARINGEO	SIN CRECIMIENTO BACTERIANO EN 24 HORAS DE INCUBACION	NEGATIVO

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 12

REVISIÓN DE HISTORIA CLÍNICA

Proyecto: Cultivo de *Streptococcus pyogenes* vs prueba de inmunoensayo cualitativa en pacientes con exudado faríngeo que acuden al hospital isidro ayora de Loja.

N° 1

1. **Datos Generales**

HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA

Nombre: [redacted]
Diagnóstico: Faringitis estreptocócica **Sexo:** Hombre
Edad: 13 **Antecedentes familiares:** Ninguno
Antecedentes Personales: Amigdalitis aguda con episodios concurrentes de fiebre
Nº Historia clínica: 604026 **Cédula:** 0706204617

2. **Datos específicos**

Ag. Carbohidratado De Estreptococo A

Positivo

Gram Directo:

Características de cocos: Abundantes cocos grampositivos en cadena.

Cultivo:

Betahemolisis

Crecimiento bacteriano:
En 24 horas con crecimiento de colonia

Catalasa:

Negativo

Gran de 24 horas: Abundantes cocos en cadena.

Pruebas Bioquímicas:

Bacitracina: Sensible
Optoquina: Resistente

REVISIÓN DE HISTORIA CLINICA

N° 2

1. **Datos Generales**

HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA

Nombre: [redacted]
Diagnóstico: Ninguno **Sexo:** Hombre
Edad: 9 **Antecedentes familiares:** Ninguno
Antecedentes Personales: Ninguno
Nº Historia clínica: 604097 **Cédula:** 1105801912

2. **Datos específicos**

Ag. Carbohidratado De Estreptococo A

Positivo

Gram Directo:

Características de cocos: Algunos cocos grampositivos aislados y en pares.

Cultivo:

Desarrollo de microbiota faríngea en 24 horas

Catalasa:

Positiva

Gran de 24 horas: Algunos cocos grampositivos aislados

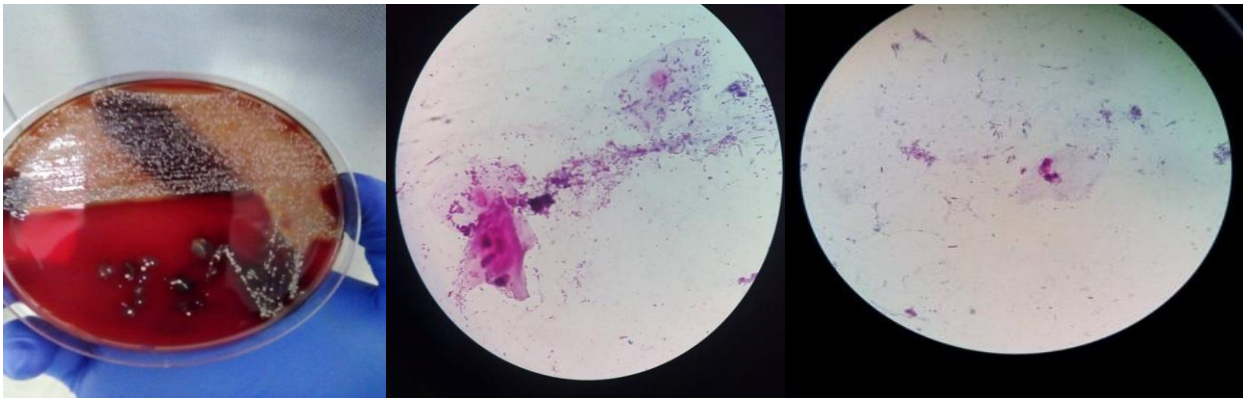
Pruebas Bioquímicas:

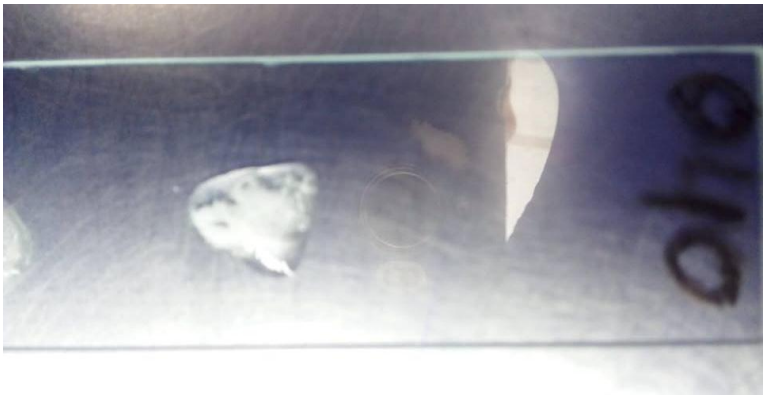
Bacitracina: Resistente
Optoquina: Resistente

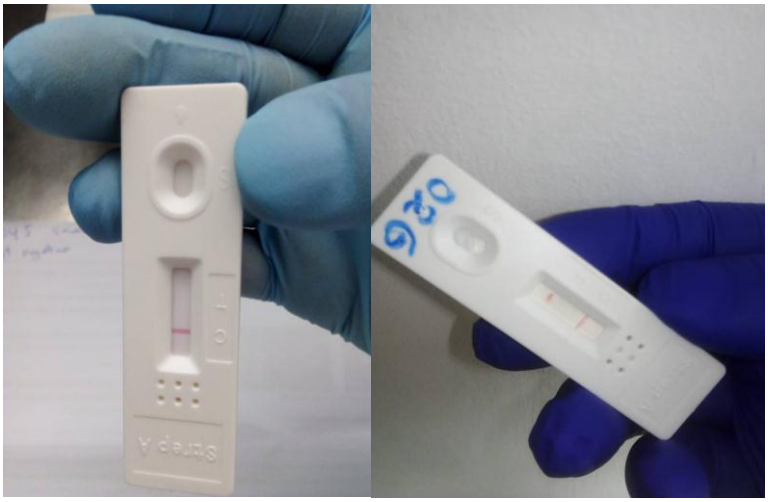
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 13

RESULTADO POSITIVO EN CULTIVO Y CASETE



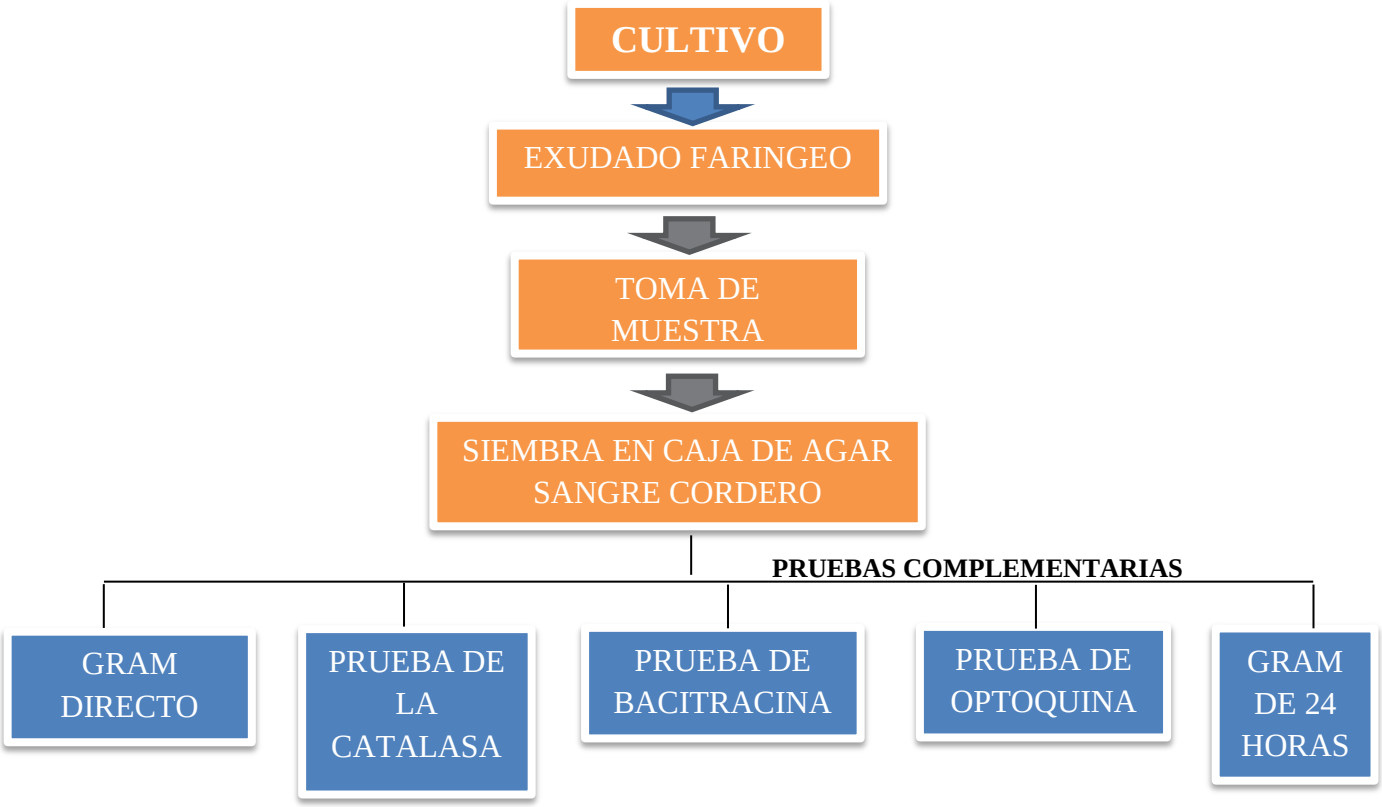




UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

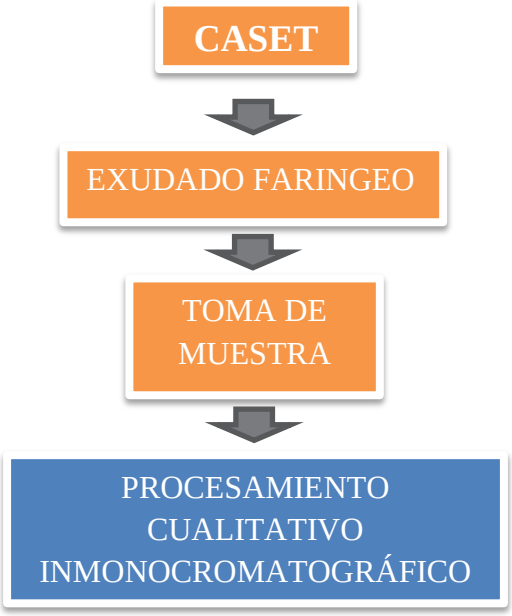
ANEXO 14

ESQUEMATIZACIÓN DEL PROCESO DE MUESTREO EN LA FASE ANALÍTICA EN CULTIVO



ESQUEMATIZACIÓN DEL PROCESO DE MUESTREO EN LA FASE

ANALITICA EN CASET



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 15

MATRIZ OPERACIONAL DE VARIABLE

Proyecto: Cultivo de *Streptococcus pyogenes* vs prueba de inmunoensayo cualitativa en pacientes con exudado faríngeo que acuden al hospital isidro ayora de Loja.

VARIABLE	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA	
INDEPENDIENTE	***Streptococcus pyogenes*** *Es una bacteria Grampositiva que crece en cadenas de cuatro a diez células, cocos esféricos que constituye la causa más frecuente de faringitis bacteriana estreptocócica.*	Crecimiento bacteriano	24 h con crecimiento	24 horas sin crecimiento
		Antígenos	Sensibilidad	
			Especificidad	
		Agar sangre	Presencia o ausencia de colonias blancas, beta hemolisis	
		Gran directo	Cocos gran positivos en cadena	
		Ag. Carbohidratado de estreptococo A.	Positivo	
			Negativo	

Autor: Fabián Díaz

ANEXO 16

Certificado de traducción del resumen

THE CANADIAN HOUSE CENTER

Aprende el Inglés de verdad...!

"Make today so awesome, yesterday gets jealous."

THE CANADIAN HOUSE CENTER

El que suscribe, en representación del **THE CANADIAN HOUSE CENTER** con **RUC Nº 1191756777001,** el cual está aprobado por el **Ministerio de Educación del Ecuador** según resolución ministerial **Nº 320 – 15** y con registro **Nº SETEC-OCR-00001757** de la **Secretaría Técnica del Sistema Nacional de Cualificaciones Profesionales**.

CERTIFICA. -

Que el resumen de tesis titulada **"CULTIVO DE ESTREPTOCOCO PYOGENES VS PRUEBA DE INMUNOENSAYO CUALITATIVA EN PACIENTES CON EXUDADO FARÍNGEO QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA",** realizada por el **Sr**. DÍAZ SINCHE FABIÁN DARÍO, con número de cédula 1104854623, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico de la **UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA,** ha sido debidamente traducido por el Lic. Ross Sampayo, Director Académico de nuestra prestigiosa entidad especializada en la buena enseñanza del idioma inglés.

Se expide el presente documento, de acuerdo a la ley, para los fines necesarios.

Loja, 26 de Diciembre del 2018.

ROYAL INTERNATIONAL LANGUAGE ACADEMY UK CIA. LTDA.
RUC: 1191756777001
DIR: MIGUEL RIOFRIO 156-70 ENTRE BOLIVAR Y SUCRE - Telf: 2571800

LIC. Ross Sampayo
DIRECTOR ACADÉMICO
THE CANADIAN HOUSE CENTER

CHC MATRÍZ: Venezuela 19 - 77 e/ José María Peña y Av. Pío Jaramillo Alvarado
CHC CENTRO: Miguel Riofrío 14 - 35 entre Bolívar y Sucre
2565257 (Chc Centro) · 2585435 (Chc Matríz)

www.thecanadianhousecenter.com
/CHCLoja