UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN *STREPTOCOCCUS SPP.*

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA

ALUMNO: ARIEL GONZALO SEPÚLVEDA POZO
PROFESOR GUIA: MG. CS. T.M PAULINA ABACA

TALCA-CHILE
2018

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.

UNIVERSIDAD DE TALCA * DIRECCIÓN * SISTEMA DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD DE TALCA * PROCESOS TÉCNICOS * SISTEMA DE BIBLIOTECAS

Talca, 2019

Índice Contenidos

Contenido **Página**

1. Resumen……...6

2. Introducción…….7

3. Objetivos……11

3.1 Objetivo general……..11

3.2 Objetivos específicos……...11

4. Revisión Bibliográfica……...12

4.1. Género *Streptococcus spp*……..12

4.2. *Streptococcus pyogenes*……..14

4.3. *Streptococcus agalactiae*……18

4.4. Fenotipos de resistencia *S. pyogenes* y *S. agalactiae*……25

4.5. *Streptococcus pneumoniae*…….27

4.6. Métodos de detección fenotípica de mecanismos de resistencia en *Streptococcus*...41

5. Conclusión……..46

6. Referencias…….47

Índice Tablas

Contenido **Página**

Tablas Género *Streptococcus spp*:

1.- Clasificación de las especies del género *Streptococcus* basándose en la secuencia del gen 16S rRNA……...12

2.- Grupo de Lancefield correspondiente a clasificación de *Streptococcus*……..13

Tablas *Streptococcus pyogenes*:

1.- Resistencia antimicrobiana en *Streptococcus pyogenes* Vigilancia de laboratorio ISP. Chile 2009-2014……15

2.- Porcentaje de sensibilidad antimicrobiana *S. pyogenes*, Chile 2009-2013……..17

3.- Porcentaje de sensibilidad antimicrobiana de *S. pyogenes* por grupo etario……...17

Tablas *Streptococcus agalactiae:*

1.- Susceptibilidad a antimicrobianos en cepas de *S. agalactiae* aislados de enfermedad invasora, Chile 2009-2014……....19

2.- Fenotipos de resistencia de *S.agalactiae* aislados de enfermedad invasora asociados a macrólidos y lincosamidas. Chile 2009-2014……...21

3.- Fenotipos de resistencias de *S.agalactiae* aislado de enfermedad invasora asociados a macrólidos y lincosamidas. Chile 2009-2014……...21

4.- Cepas de S. agalactiae resistentes a eritromicina o clindamicina por fenotipo, Chile 2009-2011…….21

Tablas *Streptococcus pneumoniae:*

1.- Susceptibilidad in vitro a penicilina y cefotaxima en cepas de *S. pneumoniae*. Chile, 2011 – 2017……...28

2.- Susceptibilidad in vitro a eritromicina, levofloxacino y vancomicina en cepas de *S. pneumoniae*. Chile, 2011 – 2017……...29

3.- Susceptibilidad in vitro a penicilina y cefotaxima en cepas de *S. pneumoniae* por grupos etarios. Chile, 2011 – 2017……...30

4.- Susceptibilidad in vitro a eritromicina, levofloxacino y vancomicina en cepas de *S. pneumoniae* por grupos etarios. Chile, 2011 – 2017…….31
5.- Número y porcentaje de cepas de *Streptococcus pneumoniae* confirmadas por laboratorio en menores de 2 años, por serotipo y año. Chile, 2011 – 2017……..40

Índice Gráficos

Contenido **Página**

Gráficos *Streptococcus agalactiae*:
1.- Vigilancia de laboratorio ISP, resistencia antimicrobiana *S. agalactiae*…….20
2.- Número de cepas de *S.agalactiae* aislado de enfermedad invasora y tasa por 100.000 habitantes, por año. Chile 2009-2014……...24

Gráficos *Streptococcus pneumoniae*:
1.- Casos de ENI confirmados por laboratorio y tasa de incidencia. Chile, 2011-2017…...36
2.- Casos confirmados por el laboratorio de ENI anualmente por grupo etario, y porcentaje correspondiente a menores de 2 y mayores de 64 años, Chile, 2011-2017……..37
3.- Distribución de casos de ENI por tipo de muestra y año. Chile, 2011 – 2017……38
4.- Distribución porcentual de serotipos de *Streptococcus pneumoniae* de ENI por año. Chile, 2011 – 2017……39

Índice Figuras

Contenido **Página**

Figuras Fenotipos de resistencia de *S. pyogenes* y *S. agalactiae*:
1.- Fenotipo de resistencia M……....25

2.- Fenotipo de resistencia MLS_c.....25
3.- Fenotipo de resistencia MLS_i ……..26
4.- Zona D del Fenotipo de resistencia MLS_i……....26
5.- Fenotipo de resistencia L…….27

Figuras Métodos de detección fenotípica de mecanismos de resistencia en *Streptococcus:*

1.- Determinación de la CMI y CMB…….42
2.- Método de difusión en agar comercial E-test de Laboratorio Biomérieux……..43
3.- Método de difusión en agar comercial E-test de Laboratorio Biomérieux……..43
4.- Método de difusión en disco en agar comercial Mueller-Hinton II Vitek con sensidiscos carbapenémicos…….45

1. RESUMEN

Las especies del género *Streptococcus* son cocáceas Gram positivo, catalasa negativo, con una disposición en pares o cadenas, anaerobios facultativos (algunos capnófilos). Actualmente se subdividen en grupos mediante anticuerpos que reconocen a los antígenos de superficie y las agrupaciones de estreptococos más importantes son A, B, y D. Se renovó el interés por el conocimiento de la patogenia, diagnóstico y terapia de las infecciones estreptocócicas, especialmente por el incremento observado en las infecciones invasivas productoras del llamado "shock tóxico estreptocócico" y de las complicaciones no supurativas, a pesar que *S. pyogenes* es sensible a una variada gama de antimicrobianos, la penicilina sigue siendo el tratamiento a elección. Se analizó la susceptibilidad de las cepas confirmadas de *S. pyogenes* a penicilina, clindamicina y eritromicina, donde se obtuvo un 100% de sensibilidad a penicilina, para clindamicina variaron entre un 97,8% y 100%, mientras que para eritromicina la variación fue entre un 93,3% y 98,7%. *S. agalactiae* es agente etiológico de infecciones neonatales, perinatales y en pacientes inmuno-comprometidos, se ha descrito resistencia a eritromicina, clindamicina y fluoroquinolona, los resultados del análisis de susceptibilidad en las cepas confirmadas de *S. agalactiae*, el 100% resultó sensible a penicilina y los valores de resistencia a clindamicina y eritromicina variaron entre el 3% y 12%. *S. pneumoniae* es una de las causas más comunes de enfermedades adquiridas en la comunidad, como neumonía, otitis media, septicemia, meningitis bacteriana. En casos de meningitis se observó un porcentaje de sensibilidad a penicilina entre 68% y 82%, en cepas con diagnósticos distintos de meningitis el porcentaje de sensibilidad osciló entre 94% y 99,7%. La penicilina continúa siendo universalmente activa in vitro contra *S. pyogenes*, los aislamientos de *S. agalactiae*, son cruciales para la selección adecuada de la profilaxis antibiótica en mujeres debido a que la resistencia a clindamicina está aumentando, y la incidencia de neumococos resistentes a la penicilina se ha incrementado dramáticamente en todo el mundo, por lo cual existe una necesidad urgente de nuevos agentes antimicrobianos que puedan superar los mecanismos de resistencia desarrollados.

2. INTRODUCCIÓN

El género *Streptococcus* está formado por bacterias esféricas u ovoides que crecen en pares o cadenas de longitud variable. La mayoría son anaerobios facultativos, existiendo algunas especies anaerobios obligados(4). Son Gram positivo, no formadores de esporas, catalasa negativo e inmóviles, tienen complejos y variables requerimientos nutricionales(5).

Este género ha sido objetivo de numerosas revisiones en la literatura científica, y su nomenclatura ha sido modificada con frecuencia; son varias las especies que se han transferido de un subgrupo a otro, se han añadido o se han redefinido(4). En estos últimos años, con la aplicación de técnicas moleculares, la taxonomía y la clasificación del género han sufrido algunas modificaciones(6). Actualmente se subdividen en grupos mediante anticuerpos que reconocen a los antígenos de superficie. Estos grupos incluyen una o más especies. Las agrupaciones de estreptococos más importantes son A, B, y D(7).

El crecimiento de estreptococos en agar con sangre de carnero al 5% se pueden observan tres tipos de reacción de hemólisis (alfa, beta, gamma)(4). La hemólisis alfa se refiere a una lisis parcial de eritrocitos que produce una coloración verde que se observa alrededor de las colonias (debido a la liberación de un producto de degradación de la hemoglobina llamado biliverdina); la hemólisis beta se refiere a un halo de hemólisis completamente claro y la hemólisis gama se refiere a la ausencia de hemólisis(7). Los estreptococos del grupo A y B son beta hemolíticos, mientras que D es generalmente alfa o gamma y los *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus viridans* son alfa-hemolíticos(8). Por lo tanto, la reacción de hemólisis es importante para la clasificación de los estreptococos(9).

La resistencia a los antimicrobianos es la facultad que tiene, genera o desarrolla un microorganismo frente a uno o distintos tipos de medicamentos antimicrobianos al que originalmente era vulnerable(5). Los organismos resistentes (bacterias, hongos, virus y algunos parásitos) pueden resistir ataques de medicamentos antimicrobianos tales como

antibióticos, fungicidas, antivirales y antipalúdicos, de tal forma que los tratamientos convencionales se vuelven ineficaces y las infecciones persisten, lo que incrementa el riesgo de propagación(5). La evolución de las cepas resistentes es un fenómeno natural que ocurre cuando los microorganismos se ven expuestos a fármacos antimicrobianos, y es posible un intercambio de características de resistencia entre ciertos tipos de bacterias(10). El uso inapropiado de medicamentos antimicrobianos acelera ese fenómeno natural. Las prácticas inapropiadas para el control de las infecciones propician la propagación de la resistencia a los antimicrobianos(4). Hay bacterias naturalmente resistentes a determinados antibióticos, mientras que otras adquieren resistencia mediante mutaciones en algunos de sus genes tras la exposición a un antibiótico. Esta resistencia, natural o adquirida, puede propagarse a otras especies bacterianas, ya que las bacterias intercambian fácilmente material genético entre ellas, incluso entre especies diferentes(11).

A partir de la década del '80 revivió el interés por el conocimiento de la patogenia, diagnóstico y terapia de las infecciones estreptocócicas, especialmente por el incremento observado en las infecciones invasivas productoras del llamado "shock tóxico estreptocócico", de elevada mortalidad(12). Hasta el momento no se han descritos aislamientos de *Streptococcus pyogenes* resistentes ni con sensibilidad intermedia a penicilina. La eritromicina ha sido ampliamente utilizada en el manejo de infecciones pediátricas desde su descubrimiento en 1952(11). En un principio, se constituyó en la alternativa para casos de infecciones estreptocócicas en pacientes alérgicos a penicilina o para infecciones producidas por microorganismos resistentes, especialmente estafilococos(13). El uso de macrólidos aumentó en las últimas dos décadas por la introducción de compuestos que presentan mejores propiedades farmacocinéticas, mejor tolerancia gastrointestinal y menor número de interacciones con otras drogas comúnmente utilizadas(4). La resistencia a eritromicina primeramente fue descrita en cepas de *Staphylococcus aureus* muy poco tiempo después de lanzada al mercado y unos años más tarde fue detectada en *Streptococcus pyogenes*. La resistencia a macrólidos de *S. pyogenes* posteriormente llegó a superar cifras del 10% en varios países de distintos continentes(13).

El origen de este aumento en la resistencia parece haber estado relacionado al incremento en la utilización de estos antibióticos(4).

Las infecciones producidas por *Streptococcus agalactiae*, beta-hemolítico grupo B (SGB) representan una fuente significativa de morbimortalidad perinatal. SGB es el principal agente causal de sepsis neonatal precoz y es responsable de las infecciones más graves y frecuentes que puede presentar un paciente en sus primeras horas de vida(14). Es causa importante de infecciones durante el embarazo y el puerperio, causando corioamnionitis, endometritis postparto, infección urinaria, infección de herida quirúrgica post–cesárea y sepsis puerperal(7). Actualmente, se incrementa su asociación con severas infecciones invasivas en adultos. Se ha señalado una fuerte asociación entre colonización vaginal y parto prematuro, rotura prematura de membrana, bajo peso al nacer, muerte intra-útero y aún con bacteriuria asintomática o sintomática durante el embarazo, proponiéndose la elevada colonización materna como causante de ello(14).

Streptococcus pneumoniae sigue siendo el agente causal más importante de las infecciones bacterianas invasivas, particularmente neumonías, en niños mayores de treinta días. Es el segundo agente etiológico de las meningitis bacterianas en niños menores de dos años (excepto cuando ocurren brotes epidémicos por *Neisseria meningitidis*) y el primero en países en donde se han implementado programas de vacunación masiva anti-*Haemophilus influenzae b(15)*. El incremento de la prevalencia de *Strectococcus pneumoniae* resistentes a penicilina (SpRP) ha provocado un renovado interés en la epidemiología de este microorganismo(16).

Esta resistencia de distintos microorganismos a variados antimicrobianos representa un gran desafío para la Salud Pública, ya que la rápida expansión de este fenómeno a nivel mundial y la aparición de sofisticados mecanismos de resistencia con potencial epidémico hacen del laboratorio de microbiología un pilar fundamental para poder reconocer los distintos tipos de mecanismos de resistencia que posee el género *Streptococcus spp*(13). también para así poder lograr una detección oportuna, un tratamiento adecuado y la

generación de valiosa información epidemiológica (5). Para esto es de mucha importancia poder reconocer los distintos tipos de mecanismos de resistencia que posee el género *Streptococcus* en el contexto y realidad de la epidemiologia nacional e internacional en el plano actual.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Reconocer las diferentes clases de resistencia antimicrobiana que presenta y desarrolla el género *Streptococcus spp*.

3.2. Objetivos Específicos

- Identificar los principales tipos de mecanismo de resistencia que presentan las principales especies de *Streptococcus spp.*
- Evaluar el estado actual de los diferentes tipos de resistencia que presentan *S.pyogenes*, *S. agalactiae* y *S. pneumoniae*.
- Conocer métodos de detección fenotípica para mecanismos de resistencia de *Streptococcus spp.*

4. REVISION BIBLIOGRÁFICA

4.1- Género *Streptococcus spp.*

Los *Streptococcus* pertenecen a la familia Streptococcaceae, género *Streptococcus*. No están bien definidas a nivel molecular, si a nivel fenotípico. Se agrupan en grupos filogenéticos, los cuales son: piogénico, mitis, anginosus, salivarius, bovis, mutans y no clasificable, este se basa en la agrupación de bacterias por su ARN ribosomal 16s(4).

Clasificación de las especies del género *Streptococcus* basándose en la secuencia del gen 16S rRNA.

Grupo piogénico	Grupo mitis	Grupo anginosus	Grupo salivarus	Grupo bovis	Grupo mutans	Otros estreptococos
S.pyogenes	*S. pneumoniae*	*S. anginosus*	*S. salivarus*	*S. equinus*	*S. mutans*	*S. suis*
S.agalactiae	*S. oralis*	*S. costellatus*	*S. vestibularis*	*S. alactolyticus*	*S. sobrinus*	*S. intestinales*
S. disgalactiae spp. dysgalactiae	*S. mitis*	*S. intermedius*	*S. thermophilus*	*S. gallolyticus*	*S. ratus*	*S. entericus*
S. disgalactiae spp. equisimilis	*S. sanguis*			*S. pasteurianus*	*S. cricetus*	*S. acidominicus*
S. canis	*S. gordonii*			*S. lutetiensis*	*S. downei*	*S. gallinaceus*
S. equi spp. equi	*S. parasanguis*			*S. infantarius*	*S. ferus*	*S. thoraltensis*
S. equi. spp. zooepidemicus	*S. crista*				*S. macacae*	*S. pluranimalium*
S. uberis	*S. australis*				*S. orisratti*	*S. hyovaginalis*
S. parauberis	*S. infantis*					*S. ovis*
S. hyointestinalis	*S. sinensis*					
S. iniae						
S. didelphis						
S. phocae						
S. porcinus						
S. urinalis						

Tabla 1: Clasificación de especies del género *Streptococcus* basándose en la secuencia del gen 16S rRNA. Imagen adaptada de Velázquez N. 2012.

Dentro del grupo piogénico se encuentra *Streptococcus pyogenes* (exclusivo en humanos) y el *Streptococcus agalactiae* (origen zoonótico)(14). En el grupo mitis el principal representante es *Streptococcus pneumoniae*; grupo salivarius, se encuentran principalmente en la cavidad oral, no causando daño en ser humano(4). El grupo bovis, se asocian a enfermedades en animales con excepción de *Streptococcus bovis* que se asocia a enfermedades post operatorias, intestinales. Por último, está el grupo mutans, siendo las especies más importantes el *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, en especial *S. mutans* es el causante de caries en humanos(7).

En 1933 la estadounidense Rebecca Lancefield detectó que muchos *Streptococcus* del hombre tienen en su peptidoglican un carbohidrato C el cual presenta dependiendo del tipo de *Streptococcus* una antigenicidad específica. En base a ésta información se clasificó en los grupos de Lancefield(11).

Grupo de Lancefield			
Designación	Antígeno	Especie	Infección principal en humanos
A	Polisacarido de rhamnosa N-acetil glucosamina	*S. pyogenes*	Faringitis, pioderma, infección heridas
B	Polisacarido de rhamnosa glucosamina	*S. agalactiae*	Septicemia neonatal, meningitis
C	Polisacarido de rhamnosa N-acetil galactosamina	*S. equisimilis S. zooepidermicus*	Faringitis, pioderma, endocarditis
D	Glicerol y ác. Teitoico más D-alanina y glucosa	*S. bovis S. equinus*	Endocarditis, ITU, septicemia neonatal y meningitis

Tabla 2: Grupo de Lancefield correspondiente a clasificación de *Streptococcus*. Imagen adaptada de Aracil B.

Las especies del género *Streptococcus* como características generales son cocáceas Gram positivo, con una disposición en cadena (las cadenas se forman porque ocupan un plano en el espacio)(13). Son bacterias facultativas (crecen en presencia o ausencia de O2). Algunos son capnófilos, quiere decir que necesitan de CO2 para su crecimiento (Ej.: *S. pneumoniae*, necesita 10% CO2)(4). Son no esporulados, inmóviles, presentan cápsula en su mayoría, cuya composición química varía entre especies. Crecen en medios enriquecidos, fundamentalmente en sangre, formando colonias de reducido tamaño y de

color blancas-crema la mayoría de ellas(7). El hábitat de estas bacterias es ubicuo (medio ambiente, aguas servidas, animales, vegetales, etc.). La mayor parte de este género se localiza en boca e intestino grueso. La hemolisis es una importante característica del crecimiento en medios de cultivo de estas bacterias, ya que ayuda a la identificación de ésta especie(8). Los β-hemolíticos, donde destacan *S. pyogenes* y *S. agalactiae*(14), son de importancia clínica y radica en la resistencia que han adquirido a algunos antimicrobianos(4).

4.2- *Streptococcus pyogenes*

Las enfermedades producida por el *Streptococcus* β-hemolítico grupo A (SGA) o *S. pyogenes* continúan siendo un problema frecuente en Chile y el resto del mundo(4). A comienzo de la década de los 80 se pensó que las complicaciones no supurativas de la infección estreptocócica como la enfermedad reumática y glomérulonefritis aguda(11), se encontraban en retirada, pero la aparición de brotes de estas enfermedades y el aumento en la incidencia de enfermedades invasivas graves, ha renovado el interés en ente agente(12).

A pesar que *S. pyogenes* es sensible a una variada gama de antimicrobianos, la penicilina sigue siendo el tratamiento a elección, ya que no se ha observado un cambio importante en la susceptibilidad in vitro a ella. El uso indiscriminado de antimicrobianos alternativos a la penicilina ha causado la aparición de cepas resistentes(17).

Hasta la fecha no se descrito ninguna cepa resistencia a la penicilina. Por lo tanto si se detecta una cepa resistente debe confirmarse el resultado, remitiéndolo a un centro de referencia(18). En el caso de Chile, al Instituto de Salud Pública (ISP)(19).

En Chile los resultados de la vigilancia 2009-2014 indican que no existe resistencia a penicilina y respecto a la eritromicina y clindamicina se observó un comportamiento estable con bajo porcentaje de resistencia(6).

a) Susceptibilidad antimicrobiana de *S. pyogenes*

Al analizar la susceptibilidad de las cepas confirmadas de *S. pyogenes* por grupos de edad, se observó en los tres grupos de edad un alto porcentaje de sensibilidad a macrólidos y lincosamidas(13). El fenotipo de resistencia M fue detectado en cada grupo de edad, el fenotipo MLS_c se detectó solo en el grupo de 16 o más años, y el fenotipo MLS_i se detectó en los grupos de 1 a 15 años y de 16 años o más. Se excluyeron del análisis 29 cepas sin información acerca de la edad(19).

Antimicrobianos				
Año	n	%Penicilina	%Clindamicina	%Eritromicina
2009-2010	120	0	2	3
2011-2012	163	0	2	2
2013-2014	228	0	1	2
Total	511	0	1	3

Tabla 1: Resistencia antimicrobiana en *Streptococcus pyogenes* Vigilancia de laboratorio ISP. Chile 2009-2014. Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas Gram Positivas. Departamento de Laboratorio Biomédico. Instituto de Salud Pública de Chile, 2013.

Vigilancia de laboratorio ISP, los resultados de esta vigilancia confirman que no existe resistencia a penicilina en el periodo evaluado, respecto a eritromicina y clindamicina se observó un comportamiento estable con bajo porcentaje de resistencia(19). Para *S. pyogenes* se ha encontrado la presencia de resistencia a eritromicina y clindamicina, lo cual permite identificar los fenotipos de resistencia M, MLS y L, que también han sido identificados en Chile, siendo aún de baja frecuencia(9).

b) Fenotipos de resistencia antimicrobiana

Fenotipo M: Resistencia a Eritromicina y Sensibilidad a Clindamicina, este mecanismo se produce por la presencia de un gen mef (macrolide efflux)(20) que codifica la síntesis de una bomba que media el eflujo en forma activa(9). Este flujo activo solo confiere resistencia a macrólidos(21). Es el mecanismo de resistencia más frecuentemente descrito(22), lo que concuerda también con lo encontrado en cepas chilenas.

Fenotipo MLS_b: este mecanismo se produce por la adquisición de un gen erm (erytromycin ribosome methylase) que codifica una enzima que n-dimetila un residuo especifico de adenina en el 23S rARN(21), produciendo un cambio conformacional en el ribosoma que disminuye la afinidad a macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B(23), fármacos químicamente distintos, pero con similar mecanismo y sitio de acción. Expresada en forma constitutiva e inducible. En la cepa con fenotipo inducible ($iMLS_b$), la eritromicina induce la expresión del mecanismo de resistencia(24). La inducción se ha relacionado con la presencia de cladinosa (desoxiazúcar de tipo hexosa presente en varios antibióticos unido al anillo macrólido) en los macrólidos de 14 y 15 átomos(13). Los macrólidos de 16 átomos clindamicina y telitromicina no inducen la actividad de la metilasa porque carecen de este azúcar(22). La telitromicina es activa frente a cepas de *S. pyogenes* con resistencia inducible, pero no lo es frente a cepas con resistencia constitutiva(25).

En términos prácticos, una vez adquirida la capacidad genética de producir la enzima metilasa, todos los macrólidos deben considerarse como no activos.

Fenotipo L: Resistencia a Clindamicina y Sensibilidad a Eritromicina. Gen: lnu, presencia de la enzima licosamida nucleotidil-transferasa, fenotipo menos frecuente(13).

c) Epidemiología

Susceptibilidad antimicrobiana de *S. pyogenes*: El estudio de la susceptibilidad antimicrobiana fue realizado por el método de difusión en Agar (Kirby-Bauer), según estándares del Clinical Laboratory Standards Institute (26).

Antimicrobiano	2009		2010		2011		2012		2013		Total 2009-2013	
	n	%S	n	%S	n	%S	n	%S	n	%S	n	%S
Penicilina		100%		100%		100%		100%		100%		100%
Clindamicina	75	98,7%	45	97,8%	65	98,5%	98	98,0%	63	100%	346	98,6%
Eritromicina		98,70%		93,30%		98,50%		96,60%		96,80%		97,30%
Tetraciclina	-	-	-	-	-	-	83	98,8%	63	100%	146	99,3%

Tabla 2: Porcentaje de sensibilidad antimicrobiana *S. pyogenes*, Chile 2009-2013. Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas Gram Positivas. Departamento de Laboratorio Biomédico. Instituto de Salud Pública de Chile, 2013.

Se analizó la susceptibilidad de las cepas confirmadas de *S. pyogenes* a penicilina, clindamicina y eritromicina. Donde se obtuvo un 100% de sensibilidad a penicilina en el periodo establecido, los porcentajes anuales de sensibilidad a clindamicina variaron entre un 97,8% y 100%, mientras que para eritromicina la variación fue entre un 93,3% y 98,7% durante el periodo establecido(27).

Antimicrobiano	< 1 año		1 - 15 años		≥ 16 años	
	n	%S	n	%S	n	%S
Penicilina		100%		100%		100%
Clindamicina	24	100%	133	99,2%	160	97,5%
Eritromicina		95,80%		97,70%		96,30%
Tetraciclina	10	10/10	64	100%	64	98,4%

Tabla 3: Porcentaje de sensibilidad antimicrobiana de *S. pyogenes* por grupo etario. Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas Gram Positivas. Departamento de Laboratorio Biomédico. Instituto de Salud Pública de Chile, 2013.

Se analizó la susceptibilidad de las cepas confirmadas de *S. pyogenes* por grupos de edad, donde se observó en los tres grupos de edad un alto porcentaje de sensibilidad a macrólidos y lincosamidas. El fenotipo de resistencia M fue detectado en cada grupo de edad, el fenotipo MLS_C se detectó solo en el grupo de 16 o más años, y el fenotipo MLS_I se detectó en los grupos de 1 a 15 años y de 16 años o más(27).

En el ambiente internacional la incidencia de *S. pyogenes* puede variar levemente dependiendo de la región, en Estados Unidos se atienden anualmente cerca de 7,3 millones de consultas médicas ambulatorias por dolor de garganta en niños(28), y *S. pyogenes* es responsable del 15% a 36% de los casos(29, 30); la prevalencia de *S. pyogenes* en individuos sintomáticos es del 37% y en asintomáticos del 12%(31).

En Londres se observa una proporción de niños colonizados del 5,9%, mientras que en Nepal(32) y Croacia informan una frecuencia del 10,9%(33), en cambio en Colombia la frecuencia de la infección por este agente es del 14,6%, la mayor frecuencia se encuentra en el grupo etario de 4–7 años; este porcentaje es similar a lo reportado en escolares de la Habana, Cuba(34). La frecuencia de resistencia de *S. pyogenes* a los antibióticos es del 5,7% para clindamicina; 3,8% para eritromicina y 3,1% para azitromicina(29, 30), también se observa sensibilidad a ceftriaxona y eritromicina en un 84,6%(35).

4.3- *Streptococcus agalactiae*

El *S. agalactiae* o estreptococo β-hemolítico del grupo B (SGB), es una cocácea Gram positivo, capsulado, anaerobio facultativo, beta hemolítico o gama hemolítico en agar sangre de cordero, no esporulado, inmóvil, catalasa y oxidasa negativo(4). Se presenta en pares o formando cadenas cortas y se caracteriza por la presencia del antígeno polisacárido B de Lancefield y antígenos proteicos, que permiten su clasificación en serotipos(14). Su importancia radica en que es agente etiológico de infecciones neonatales, perinatales y en pacientes inmuno-comprometidos(7).

La tasa de incidencia mundial de infecciones invasoras producidas por *S. agalactiae* en recién nacidos es de 0,6 a 1,7 casos por 1000 recién nacidos, una cifra similar para Chile(36). Se ha descrito en el mundo resistencia a eritromicina, clindamicina y fluoroquinolona, la resistencia a eritromicina y clindamicina nos permite identificar los fenotipos de resistencia M, MLS y L(37), los cuales se han identificado en Chile en muy baja frecuencia. En el Instituto de salud Pública de chile (ISP), se ha efectuado la caracterización molecular de cepas aisladas en el país, por electroforesis en campo pulsado (PFGE) y por reacción de polimerasa en cadena (PCR)(4).

a) Susceptibilidad antimicrobiana de *S. agalactiae*

En el periodo 2009 - 2014 se estudió la susceptibilidad a penicilina, clindamicina y eritromicina de todas las cepas confirmadas de *S. agalactiae.* A fines del año 2011, debido al reporte internacional de cepas resistentes a levofloxacino y ofloxacino, el ISP lo incorporó como parte de la caracterización de este agente.

La tabla 1 muestra los resultados del análisis de susceptibilidad en las cepas confirmadas de *S. agalactiae* durante los años 2009 a 2014. Del total de cepas confirmadas, el 100% resultó sensible a penicilina. Los valores de resistencia a clindamicina y eritromicina variaron entre el 3% en el año 2011 y 12% en el año 2014(36).

Año	n	Penicilina		Clindamicina		Eritromicina		Levofloxacino		Ofloxacino	
		%R	%S	%R	%S	%R	%S	%R	%S	%R	%S
2009	121	100%	0%	92%	8%	92%	8%				
2010	127	100%	0%	94%	6%	93%	7%				
2011	109	100%	0%	97%	3%	97%	3%	100%		100%	
2012	139	100%	0%	93%	7%	92%	8%	99%	1%	99%	1%
2013	158	100%	0%	92%	8%	91%	9%	95%	5%	95%	5%
2014	100	100%	0%	89%	11%	88%	12%	96%	4%	96%	4%

Tabla 1: Susceptibilidad a antimicrobianos en cepas de *S. agalactiae* aislados de enfermedad invasora, Chile 2009-2014. Fuente: Laboratorio Meningitis bacteriana. Instituto de Salud Pública de Chile, 2014.

Se estudió la susceptibilidad a penicilina, clindamicina y eritromicina de todas las cepas confirmadas de *S. agalactiae*. También se puede observar que a fines del año 2011, debido al reporte internacional de cepas resistentes a levofloxacino y ofloxacino(14), el ISP lo incorporó como parte de la caracterización de este agente. Como análisis final se muestran los resultados de la susceptibilidad en las cepas confirmadas de *S. agalactiae* durante los años 2009 a 2014. Del total de cepas confirmadas, el 100% resultó sensible a penicilina. Los valores de resistencia a clindamicina y eritromicina variaron entre el 3% en el año 2011 y 12% en el año 2014(36).

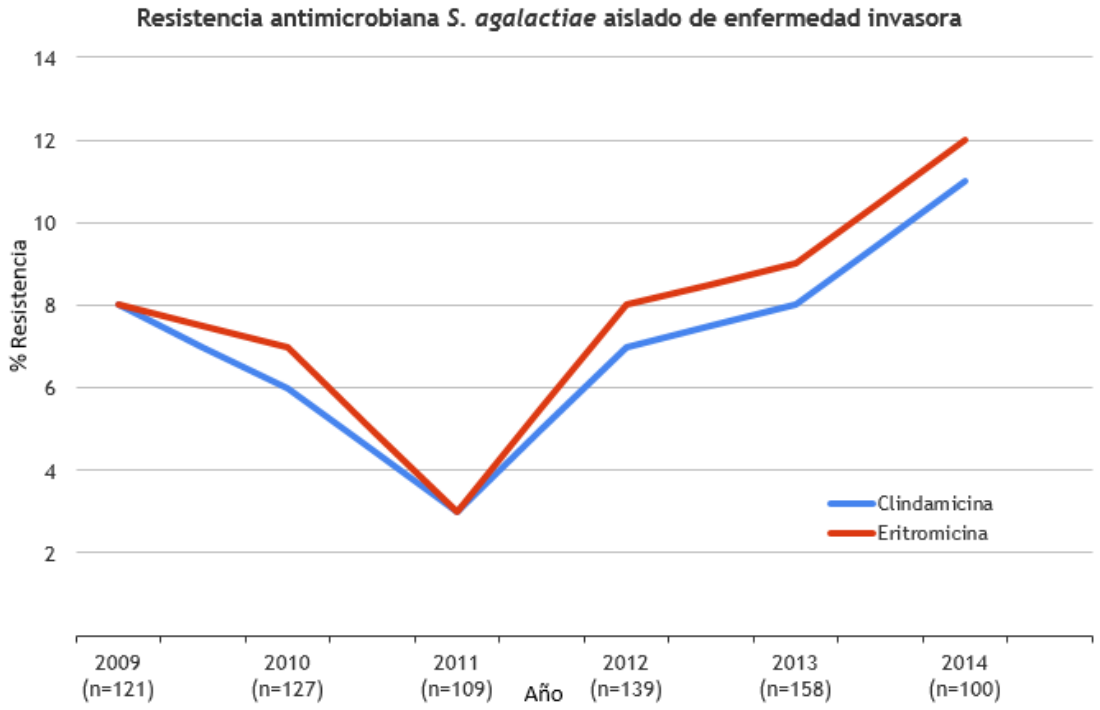

Gráfico 1: Vigilancia de laboratorio ISP, resistencia antimicrobiana *S. agalactiae.* Fuente: Laboratorio Meningitis bacteriana. Instituto de Salud Pública de Chile, 2015.

Los resultados de esta vigilancia confirman que en el periodo evaluado existe un 100% de sensibilidad a penicilina. Los valores de resistencia a clindamicina y eritromicina presentaron una tendencia ascendente a partir del año 2012 llegando a cifras de 11 y 12% respectivamente(19).

En la tabla 2, se presentan las cepas de *S. agalactiae* por serotipo y según susceptibilidad a eritromicina y clindamicina.

Serotipo	n	Eritromicina		Clindamicina	
		%R	%S	%R	%S
Ia	182	95%	5%	98%	2%
Ib	58	98%	2%	98%	2%
II	55	87%	13%	87%	13%
III	338	94%	6%	93%	7%
Otros	88	75%	25%	77%	23%
NT	13	100%	0%	100%	0%
Total	**754**	**92%**	**8%**	**93%**	**7%**

Tabla 2: Fenotipos de resistencia de *S.agalactiae* aislados de enfermedad invasora asociados a macrólidos y lincosamidas. Chile 2009-2014. Fuente: Laboratorio Meningitis bacteriana. Instituto de Salud Pública de Chile, 2014.

En la Tabla 3, se presentan los distintos fenotipos de resistencia a eritromicina y clindamicina. El 42,2% (27/64) de las cepas correspondió al fenotipo MLS_c y el 37,5% (24/64) al MLS_i(36).

Fenotipo	2009	2010	2011	2012	2013	2014	Total
L	1	0	0	0	0	3	4
M	1	1	0	1	2	4	9
MLS_c	7	4	1	7	4	4	27
MLSi	2	4	2	3	9	4	24
Total	11	9	3	11	15	15	64

Tabla 3: Fenotipos de resistencias de *S.agalactiae* aislado de enfermedad invasora asociados a macrólidos y lincosamidas. Chile 2009-2014. Fuente: Laboratorio Meningitis bacteriana. Instituto de Salud Pública de Chile, 2014.

Fenotipo	Cepas	Porcentaje
M	3	7,90%
L	9	23,70%
MLSc	14	36,80%
MLSi	12	31,60%
Total	38	100%

Tabla 4: Cepas de *S. agalactiae* resistentes a eritromicina o clindamicina por fenotipo, Chile 2009-2011. Fuente: Laboratorio Meningitis bacteriana. Instituto de Salud Pública de Chile, 2014.

b) Resistencia antimicrobiana

La resistencia se debe generalmente a la modificación del objetivo que implica el sitio 23S rRNA objetivo compartido con lincosamidas y estreptograminas (macrólido-lincosamida-estreptogramina, Fenotipo MLS)(23). Los fenotipos de la resistencia MLS en los estreptococos pueden ser inducibles o constitutivos(37).

- **Resistencia a Eritromicina y Clindamicina**

Fenotipo L: Resistencia a lincosamidas es mediada por gen lunB que codifica a una enzima llamada lincosamida nucleotidil transferasa(14).

- **Resistencia a Quinolonas**

Resistencia a levofloxacino y ofloxacino, producida por mutaciones en los genes parC y gyrA, es de baja frecuencia.

Las penicilinas son los agentes de primera línea en el tratamiento de las infecciones por *S. agalactiae* porque se ha considerado que todos los aislados clínicos son uniformemente susceptibles a los β-lactámicos, incluidas las penicilinas(14). Sin embargo, recientemente se

ha identificado y caracterizado molecularmente varios aislados clínicos que demuestran una susceptibilidad reducida a la penicilina (PRGBS) mediante la adquisición de mutaciones múltiples en el gen de la proteína de unión a la penicilina 2X (PBP2x)(38).

La utilización de macrólidos como drogas de segunda línea en pacientes alérgicos a los antibióticos betalactámicos debe basarse en los resultados de las pruebas de sensibilidad debido a la presencia de resistencia(14). Otras alternativas incluyen a vancomicina ya que no se han informado cepas resistentes y las fluoroquinolonas para infecciones en adultos aunque la aparición de resistencia fue detectada en diferentes partes del mundo(10). Esto último se encuentra asociado a la presencia de genes gyrA, parC y parE(39) que tienen relación con modificaciones en la girasa y topoisomerasa IV(40).

c) Epidemiología

El Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), es el Laboratorio Nacional y de Referencia para *Streptococcus agalactiae*(5) y le corresponde según lo establece el Reglamento sobre Notificación de Enfermedades Transmisibles de Declaración Obligatoria (ENO) D.S. Nº158/2004, confirmar los aislamientos de *Streptococcus agalactiae* aislado de enfermedad invasora realizados por los laboratorios clínicos públicos y privados del país(13).

Resultados vigilancia de *Streptococcus agalactiae* 2009 – 2014. Entre enero de 2009 y junio de 2014, se han confirmaron un total de 754 cepas de *S. agalactiae* aislado de enfermedad invasora. Durante el año 2014 (enero a junio) se han confirmado 100 cepas, mientras que en el mismo periodo del año 2013 se habían confirmado 75, lo que representa un aumento del 33,3% de cepas respecto al año anterior. El gráfico 2, muestra el número de cepas y la tasa por 100.000 habitantes de cepas confirmadas con *S. agalactiae* por año del periodo en estudio. El año con el mayor número de cepas fue el 2013, con 0,9 cepas confirmadas de *S. agalactiae* por 100.000 habitantes(36).

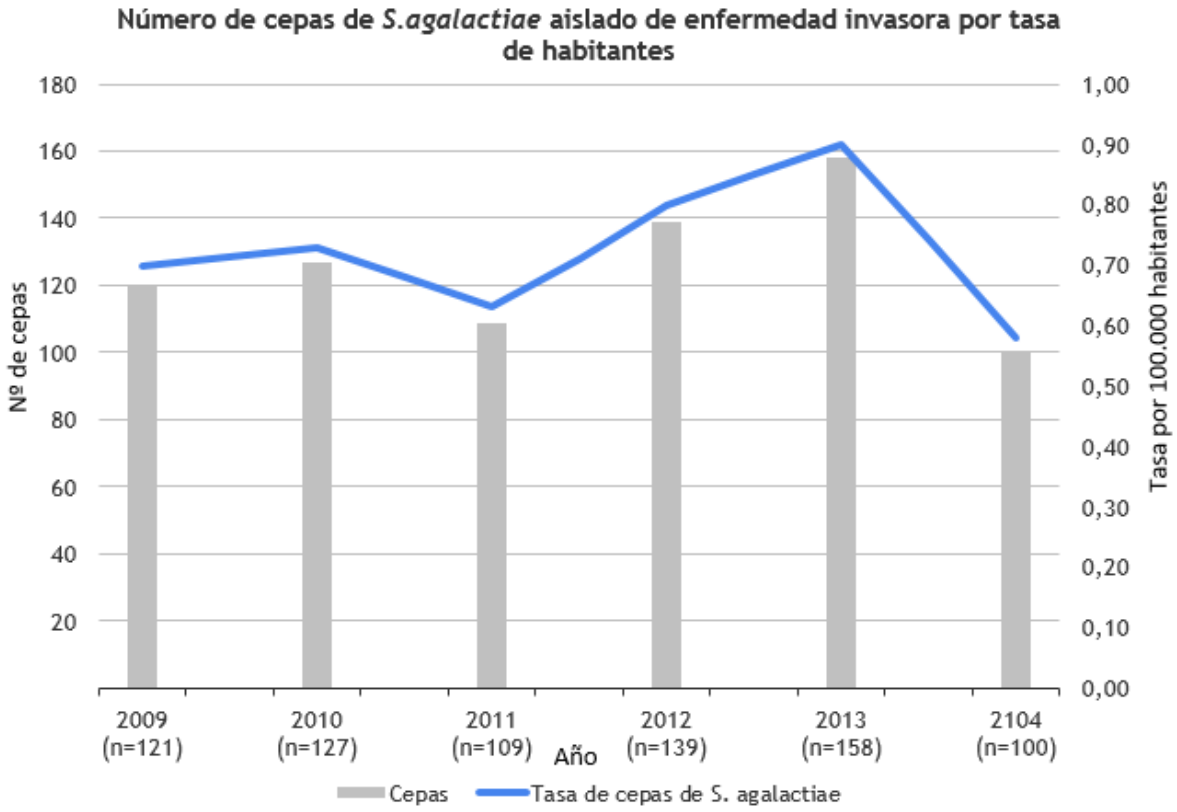

Gráfico 2: Número de cepas de *S.agalactiae* aislado de enfermedad invasora y tasa por 100.000 habitantes, por año. Chile 2009-2014. Fuente: Laboratorio Meningitis bacteriana. Instituto de Salud Pública de Chile, 2014.

Dentro del panorama internacional de *S. agalactiae* en países como Colombia, Uruguay, México y otros, se han encontrado rangos de prevalencia similares. Entre 2004 y 2012 en Colombia se identificaron 671 cepas y se reportaron 95 infecciones graves, de ellos 12,6% eran recién nacidos y 82,2% eran adultos(41, 42).

Las tasas de colonización genital por *S. agalactiae* en general varían entre el 5 y el 18% de estudios provenientes de México, Argentina, Colombia y Brasil(41, 43, 44). En países industrializados(30, 45) las tasas de colonización varían entre el 5 y 25% dependiendo la población. En Estados Unidos e Inglaterra se informa una prevalencia cercana al 20%(43, 46), dentro de estos se informa un 28% de resistencia a clindamicina y eritromicina, en la ciudad de Chicago se reporta un 100% de sensibilidad a vancomicina, ofloxacino,

ampicilina, ciprofloxacino, nitrofurantoina y penicilina; 31% fueron resistentes azitromicina y 19% a clindamicina(47). También se determinó una resistencia a clindamicina y eritromicina del 28%, los mecanismos observados fueron: MLS_B inducible del 14.2% y un 85.8% MLS_B constitutivo(30).

4.4- Fenotipos de resistencia de *S. pyogenes* y *S. agalactiae*

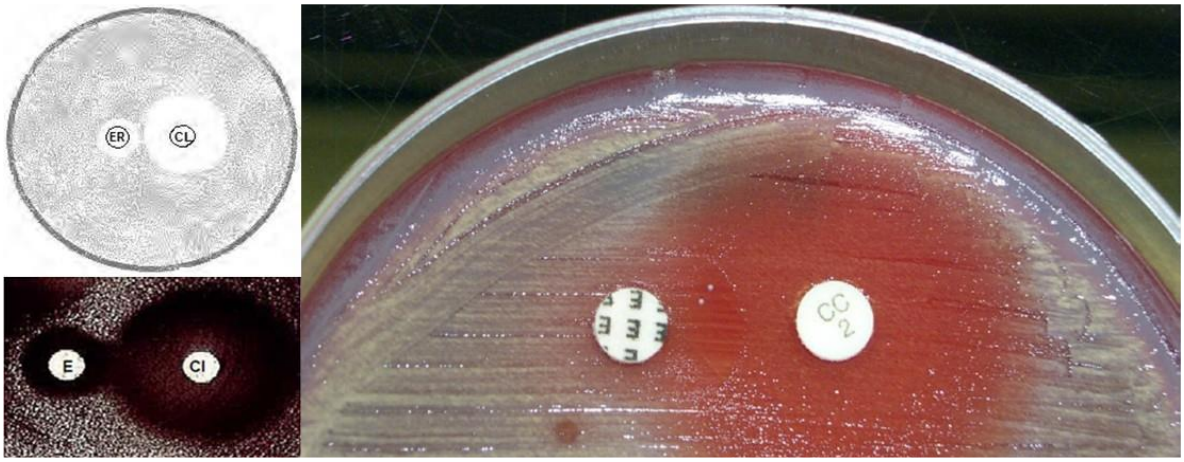

Figura 1: Fenotipo de resistencia M
E= Eritromicina CL/CC=Clindamicina Imagen adaptada de Saavedra et al., 2015, Alarcón, 2013 y Velázquez, 2012(1-3).

Figura 2: Fenotipo de resistencia MLSc
E= Eritromicina CL/CC=Clindamicina Imagen adaptada de Saavedra et al., 2015, Alarcón, 2013 y Velázquez, 2012(1-3).

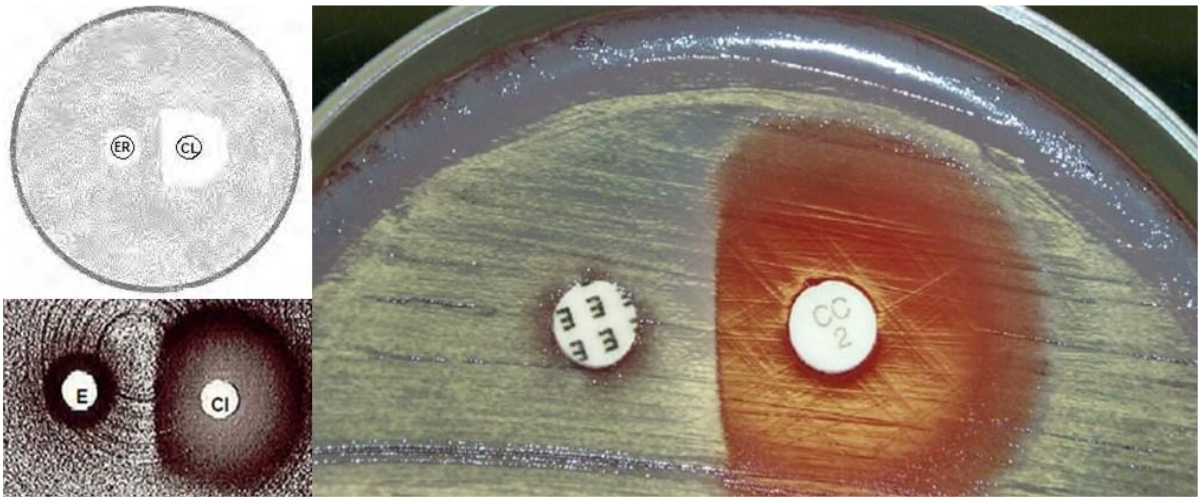

Figura 3: Fenotipo de resistencia MLSi
E= Eritromicina CL/CC=Clindamicina Imagen adaptada de Saavedra et al., 2015, Alarcón, 2013 y Velázquez, 2012(1-3).

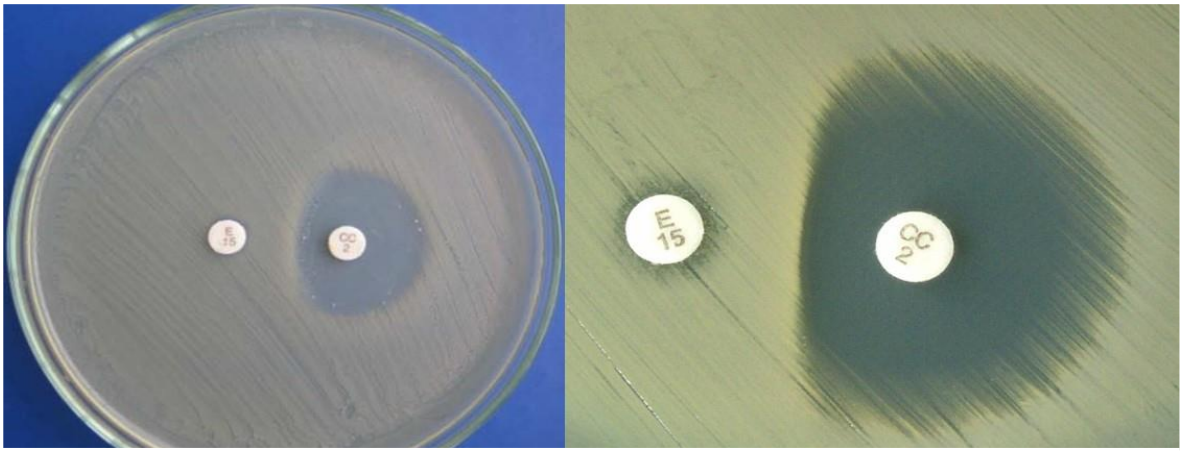

Figura 4: Zona D del Fenotipo de resistencia MLS_i.
E= Eritromicina CL/CC=Clindamicina Imagen adaptada de Saavedra et al., 2015, Alarcón, 2013 y Velázquez, 2012(1-3).

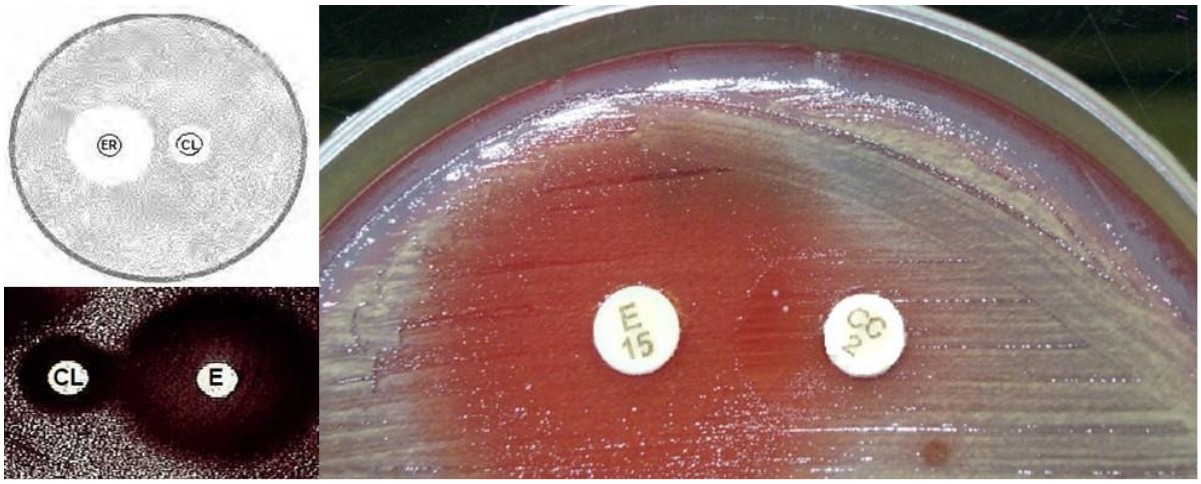

Figura 5: Fenotipo de resistencia L
E= Eritromicina CL/CC=Clindamicina Imagen adaptada de Saavedra et al., 2015, Alarcón, 2013 y Velázquez, 2012(1-3).

4.5- *Streptococcus pneumoniae*

Es un patógeno Gram-positivo y es una de las causas más comunes de enfermedades adquiridas en la comunidad, como neumonía, otitis media, septicemia, meningitis bacteriana y otras(48). La morbilidad y la mortalidad de las infecciones causadas por *S. pneumoniae* siguen siendo altas a pesar de la terapia antibiótica adecuada(49). Desde 1940, la penicilina ha sido el fármaco de elección para el tratamiento de las infecciones neumocócicas(16). El primer aislado clínico resistente a la penicilina fue descrito en 1967, donde fue recuperado de un paciente en Papúa Nueva Guinea(39). El tremendo aumento en el uso de antibióticos en todo el mundo ha contribuido fuertemente a la aparición de neumococos resistentes a múltiples antimicrobianos(8).

El evento centinela en la epidemiología de los neumococos resistentes a los antibióticos fue el brote en 1977 en Sudáfrica de enfermedades neumocócicas causadas por cepas resistentes a múltiples fármacos(15). Además de ser altamente resistentes a la penicilina (un aumento de 1000 veces de la CIM), estas cepas se encontraron resistentes a la eritromicina, clindamicina, tetraciclina y cloranfenicol(4). Existen diferentes mecanismos que ha

empleado *S. pneumoniae* para desarrollar resistencia contra penicilinas, cefalosporinas, fluoroquinolonas, macrólidos, tetraciclina, cloranfenicol y trimetoprim-sulfametoxazol(16).

a) Análisis de susceptibilidad antimicrobiana.

La Tabla 1 muestra el porcentaje de cepas sensibles, con resistencia intermedia, y resistentes a penicilina y cefotaxima, para cada año del periodo de estudio, según diagnóstico (meningitis y no meningitis). En casos de meningitis se observó un porcentaje de sensibilidad a penicilina entre 68% y 82%. En cepas con diagnósticos distintos de meningitis, el porcentaje de sensibilidad a penicilina osciló entre 94% y 99,7% en todo el periodo(49, 50)

El porcentaje de cepas sensibles a cefotaxima aisladas de casos de meningitis alcanzó el 96% en el año 2013. En cepas aisladas de diagnósticos distintos a meningitis, el porcentaje de sensibilidad osciló entre 94% y 99,7% en el periodo de estudio(49).

Antimicrobiano			2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Penicilina	Meningitis	%S	73%	75%	77%	68%	72%	82%	71%
		%R	28%	25%	23%	32%	28%	18%	29%
		n	80	73	84	88	85	79	41
	No meningitis	%S	98%	98%	99%	94%	97%	99%	100%
		%I	1%	2%	1%	5%	2%	1%	0%
		%R	1%	0%	0%	1%	1%	0%	0%
		n	644	598	611	573	585	691	296
Cefotaxima	Meningitis	%S	86%	95%	96%	89%	89%	90%	85%
		%I	13%	5%	4%	8%	7%	10%	7%
		%R	1%	0%	0%	3%	4%	0%	7%
		n	80	73	84	88	85	79	41
	No meningitis	%S	98%	98%	99%	94%	97%	99%	100%
		%I	2%	2%	1%	6%	2%	1%	0%
		%R	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
		n	644	598	611	573	585	691	296

Tabla 1: Susceptibilidad in vitro a penicilina y cefotaxima en cepas de *S. pneumoniae*. Chile, 2011 - 2017. Fuente: Laboratorio de Referencia de Meningitis Bacteriana. Departamento de Laboratorio Biomédico. ISP. 2017.

La Tabla 2 muestra la susceptibilidad a eritromicina, levofloxacino y vancomicina de las cepas provenientes de casos de ENI, para cada año del periodo de estudio. Los porcentajes de sensibilidad se mantuvieron relativamente constantes a través del tiempo, para cada uno de los antimicrobianos, con menores niveles de sensibilidad para eritromicina(49).

Antimicrobiano		2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Eritromicina	%S	64,4%	70,6%	74,5%	70,3%	71,2%	71,9%	71,8%
	%I	0,6%	0,1%	1,3%	0,3%	0,0%	0,5%	0,0%
	%R	35,0%	29,2%	24,2%	29,3%	28,8%	27,5%	28,2%
	n	725	671	695	661	670	770	337
Levofloxacino	%S	99,0%	99,3%	99,4%	99,5%	99,9%	100,0%	100,0%
	%I	0,8%	0,6%	0,4%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%
	%R	0,1%	0,1%	0,1%	0,3%	0,1%	0,0%	0,0%
	n	725	671	695	661	670	770	337
Vancomicina	%S	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
	n	725	671	695	661	670	770	337

Tabla 2: Susceptibilidad in vitro a eritromicina, levofloxacino y vancomicina en cepas de *S. pneumoniae*. Chile, 2011 - 2017. Fuente: Laboratorio de Referencia de Meningitis Bacteriana. Departamento de Laboratorio Biomédico. ISP. 2017.

- **Análisis de susceptibilidad antimicrobiana por grupos etarios.**

La Tabla 3 muestra los resultados del análisis de susceptibilidad a penicilina y cefotaxima por grupos etarios. Se excluyeron del análisis las cepas sin información de la edad del caso (104 cepas)(49).

En casos de meningitis se observó un porcentaje superior de resistencia a penicilina en menores de 5 años, al comparar con el resto de los grupos etarios. En casos correspondientes a cuadros clínicos distintos de meningitis se observaron resultados similares en cuanto a la susceptibilidad a penicilina entre los distintos grupos etarios. (50) En casos de meningitis se observó un mayor porcentaje de resistencia a cefotaxima en menores de 5 años(49). En casos con otros diagnósticos se observó baja resistencia a cefotaxima para todas las edades(51, 52).

Antimicrobiano			< 5 años	5 - 14 años	≥ 15 años	Total
Penicilina	Meningitis	%S	55,1%	75,5%	77,3%	74,2%
		%R	44,9%	24,5%	22,7%	25,8%
		n	69	49	401	519
	No meningitis	%S	95,5%	99,6%	98,6%	97,8%
		%I	3,9%	0,4%	1,1%	1,8%
		%R	0,6%	0,0%	0,3%	0,4%
		n	1002	261	2643	3906
Cefotaxima	Meningitis	%S	81,2%	97,8%	92,0%	90,2%
		%I	11,6%	12,2%	6,7%	7,9%
		%R	7,2%	0,0%	1,2%	1,9%
		n	69	49	401	519
	No meningitis	%S	95,2%	99,6%	99,0%	98,1%
		%I	4,7%	0,4%	0,9%	1,9%
		%R	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%
		n	1002	261	2643	3906

Tabla 3: Susceptibilidad in vitro a penicilina y cefotaxima en cepas de *S. pneumoniae* por grupos etarios. Chile, 2011 - 2017. Fuente: Laboratorio de Referencia de Meningitis Bacteriana. Departamento de Laboratorio Biomédico. ISP. 2017.

La Tabla 4 muestra la susceptibilidad a eritromicina, levofloxacino y vancomicina de las cepas provenientes de casos de ENI, por grupos etarios. Se observó un menor porcentaje de cepas sensibles a eritromicina en menores de 5 años, al comparar con el resto de los grupos etarios. En cuanto a la susceptibilidad a levofloxacino, se observaron resultados similares en todos los grupos, con porcentajes de sensibilidad sobre 99,5%(49).

Antimicrobiano		< 5 años	5 - 14 años	≥ 15 años	Total
Eritromicina	%S	51,4%	77,4%	76,7%	70,6%
	%I	0,7%	0,3%	0,4%	0,4%
	%R	48,0%	22,3%	22,9%	28,9%
	n	1071	310	3044	4425
Levofloxacino	%S	99,6%	99,7%	99,5%	99,6%
	%I	0,4%	0,0%	0,3%	0,3%
	%R	0,0%	0,3%	0,2%	0,1%
	n	1071	310	3044	4425
Vancomicina	%S	100%	100%	100%	100%
	n	1071	310	3044	4425

Tabla 4: Susceptibilidad in vitro a eritromicina, levofloxacino y vancomicina en cepas de *S. pneumoniae* por grupos etarios. Chile, 2011 - 2017. Fuente: Laboratorio de Referencia de Meningitis Bacteriana. Departamento de Laboratorio Biomédico. ISP. 2017.

b) Mecanismos de resistencia a antibióticos en *S. pneumoniae*

- **β-lactámicos**

El mecanismo de acción de las β-lactamasa se basa en la unión del antibiótico a las enzimas sintetizadoras de la pared celular, las proteínas de unión a la penicilina (PBP)(15), interfiriendo con la biosíntesis y la remodelación del péptidoglicano bacteriano. La unión de β-lactamasa a PBP conduce a un complejo desacilado covalentemente que elimina las PBP del conjunto metabólicamente activo(16).

El mecanismo de resistencia a la penicilina en aislados clínicos de *S. pneumoniae* implica la alteración de las PBP a fin de reducir su afinidad por la molécula de antibiótico. Las mutaciones que conducen a la resistencia a la penicilina generalmente están presentes en el dominio de unión a transpeptidasa-penicilina(8). Para llevar a una afinidad reducida a la penicilina, un PBP tiene que adquirir mutaciones múltiples de modo que se alcance

resistencia de alto nivel mediante la adquisición de más de una variante de PBP de baja afinidad. En el neumococo, se han descrito cinco PBP de alto peso molecular (PBP 1a, 1b, 2x, 2a y 2b) y una PBP de bajo peso molecular. Las alteraciones en PBP2x y PBP2b confieren resistencia de bajo nivel y son el prerrequisito para la resistencia de alto nivel mediada por mutaciones en otros PBP, como PBP1a(15). La resistencia en muchos aislados clínicos neumocócicos se debe a cambios en solo estos tres PBP. Además de su papel central en conferir resistencia de alto nivel, PBP2b parece estar relacionado con la actividad bacteriolítica de las penicilinas(51). La observación de que las cefalosporinas de tercera generación, otro grupo de antibióticos β-lactámicos, inducen menos lisis en los neumococos se basa en el hecho de que no interactúan con PBP2b. Se han descrito neumococos más resistentes a las cefalosporinas de espectro extendido que a la penicilina G; este patrón de resistencia parece deberse a alteraciones únicas en PBP tales como PBP2x y PBP1a(39).

En el neumococo, los genes que codifican las PBP alteradas se llaman genes de mosaico. Esta característica se refiere a la existencia de secuencias de nucleótidos largas y contiguas dentro de los genes de PBP, que parecen ser divergentes, es decir, de origen no neumocócico(50). Los genes mosaicos han surgido en organismos naturalmente transformables como *Neisseriae* y *Streptococcus* muy probablemente debido a la capacidad de intercambiar material genético a través de la recombinación homóloga de alelos distintos. La presencia de secuencias de ADN extendidas en los genes de PBP modifica no solo el sitio activo de estas proteínas, sino también algunos dominios secundarios implicados en el reconocimiento de la estructura muropéptida que estas bacterias usan para construir su péptidoglicano específico de clon específico(16). El origen de estos bloques de mosaico parece ser atribuible a otras especies comensales de estreptococos, ya que se han identificado bloques de secuencias estrechamente relacionados o incluso idénticos en cepas resistentes de *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus oralis*(53). La existencia de genes de PBP idénticos en clones genéticamente distintos de *S. pneumoniae* resistente a la penicilina demuestra la dispersión horizontal de los determinantes de resistencia dentro de una especie. Se ha propuesto un modelo para el origen de la resistencia a la penicilina y el mecanismo por el cual aumentan los niveles de esta(15). La

adquisición de genes de mosaico puede ocurrir de manera gradual. La incorporación de uno de esos genes de PBP de baja afinidad alterados marca el comienzo de un clon resistente, que luego se expande a través de la división celular hasta que uno de este linaje participe en un segundo evento recombinatorio que da como resultado la modificación de otros genes de alto peso molecular de PBP en el neumococo receptor. La progenie de dicha célula (que ahora tiene un aumento de MIC a penicilina) puede experimentar más eventos de recombinación, cada uno de los cuales aumenta aún más el nivel de resistencia(54).

Recientemente se han descrito dos mecanismos alternativos de resistencia a β-lactamasa in vitro en neumococo. Ambos mecanismos muy probablemente estarían involucrados en la biosíntesis de los componentes de la pared celular que actúan aguas arriba de la función biosintética de las PBP(52). El primer mecanismo implica una glicosiltransferasa putativa, CpoA, que parece actuar como el principal determinante. Se encontró en un mutante de laboratorio obtenido tras la selección con piperacilina, una β-lactamasa altamente lítica que tiene una gran afinidad con todas las PBP neumocócicas. CpoA podría estar involucrado en la biosíntesis del ácido teicoico transfiriendo carbohidratos al intermedio lipídico(55). El segundo mecanismo se refiere a una supuesta histidina quinasa codificada por el gen ciaHe identificado en un laboratorio mutante resistente a la cefotaxima, una cefalosporina de tercera generación que no induce mucha lisis. Se propuso que el sistema "cia" podría estar implicado en detectar y contrarrestar el daño a la pared celular inducido en el tratamiento con β-lactamasa. Aún no se ha identificado ningún correlato clínico que implique estas vías alternativas de resistencia a la penicilina(15). Hasta el momento, no se ha informado sobre ningún mecanismo de resistencia a la penicilina que involucre β-lactamasa en *S. pneumoniae*.

- **Macrólido-lincosamida-estreptograminas (MLS)**

Aunque los antibióticos MLS son químicamente distintos, interactúan competitivamente cuando se unen a la subunidad ribosómica 50S, donde solo una molécula es capaz de unirse.

Ya se han informado dos mecanismos de resistencia a la MLS en aislados clínicos de neumococos: la modificación del objetivo que produce la resistencia conjunta a la MLS y el flujo de salida del antibiótico que media la resistencia a los macrólidos de 14 y 15 átomos resulta en un llamado fenotipo M(51). La co-resistencia a la MLS implica el gen erm que codifica una metilasa dependiente de S-adenosilmetionina que metila un residuo de adenina en el dominio peptidil transferasa del ARNr 23S. La metilación del rRNA conduce más probablemente a un cambio conformacional en el ribosoma, reduciendo así la afinidad de los antibióticos MLS por el rRNA(15). Descripción del gen ermAM llevado a cabo el transposón conjugativo Tn 1545 o un transposón similar a Tn 917 se informó en aislados clínicos de neumococo. El fenotipo de resistencia M es conferido por un mecanismo de salida del antibiótico de la célula. El gen mefE codifica una proteína hidrofóbica transmembrana que desempeña un papel de bomba de eflujo probablemente utilizando la fuerza motriz del protón(20). Este mecanismo parece estar emergiendo rápidamente como el mecanismo predominante de resistencia a la eritromicina en aislados clínicos de neumococos aislados en muchos países**.**

- **Glucopéptidos**

Los antibióticos glucopéptidos, la vancomicina y la teicoplanina ejercen su acción antimicrobiana al evitar las reacciones de transglicosilación y transpeptidación que median en la formación de la pared celular madura. Se los ha considerado como los medicamentos de último recurso para las infecciones debidas a los neumococos resistentes a la penicilina. Hasta ahora no se ha identificado ninguna resistencia a los glicopéptidos en *S. pneumoniae*(51). Sin embargo, es motivo de gran preocupación la posibilidad de que los genes de resistencia a la vancomicina encontrados en los enterococos puedan transferirse a los neumococos(56). Estos genes enterocócicos que codifican precursores modificados de la pared celular con una afinidad disminuida por la vancomicina podrían conferir altos niveles de resistencia y son transportados por elementos transmisibles(55).

- **Fluoroquinolonas**

Las cepas de estreptococos resistentes a quinolonas suponen también un problema terapéutico de gran importancia. Por el momento la tasa de resistencia a este grupo de antibióticos es mucho menor que la resistencia a betalactámicos, aunque se observa un aumento en ciertas áreas. En España, las tasas de *S. pneumoniae* resistentes a quinolonas entre los años 2002 y 2012 han permanecido estables (en torno al 2-3%). Sin embargo, sí que se han observado cambios en los serotipos y genotipos resaltando la expansión del clon CC63 y la emergencia del clon CC15681. La resistencia a quinolonas se debe principalmente a mutaciones en grlA y gyrA. Los cambios aminoacídicos más habituales en esta especie bacteriana son en la posición S79 de grlA (S79F y S79Y) y en la posición S81 de gyrA (S81F y S81Y)(51). No obstante, algunos estudios indican que la resistencia a estos antibióticos en estreptococos es más heterogénea comparada con otros géneros Gram positivo. Se han identificado así modificaciones muy diversas en ambas proteínas. Además, se han observado también cambios en gyrB y grlB relacionados con la resistencia a quinolonas, pero son mucho menos frecuentes(55).

Otro mecanismo de resistencia que genera sensibilidad disminuida a quinolonas consiste en la presencia o sobreexpresión de las bombas de eflujo PmrA, PatA y PatB84. Por sí solas no generan elevados niveles de resistencia, pero algunos estudios sugieren que son necesarias para aumentar la probabilidad de que se den las mutaciones en las dianas anteriormente mencionadas(20). Además, estas bombas confieren resistencia a otros compuestos antibacterianos como tintes, detergentes o desinfectantes. Posibles nuevos tratamientos podrían consistir en el uso de inhibidores de estas bombas que reduzcan la selección de mutantes resistentes a quinolonas. Los genes que codifican estas bombas se hallan normalmente en el cromosoma(55). Varios estudios han sugerido que el grupo viridans de estreptococos es el reservorio de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a estos compuestos, aunque los fenómenos de recombinación entre ambas especies parecen ser muy poco frecuentes.

c) Epidemiología

En el periodo de vigilancia comprendido entre el año 2011 y junio de 2017, se confirmaron 4.642 casos de Enfermedad Neumocócica Invasora (ENI), el 97,6% (4.529/4.642) correspondieron a cepas y el 2,4% (113/4.642) a muestras de LCR o sangre analizadas mediante PCR-RT. El año en que se confirmó el mayor número de casos fue el 2016, con el 17,2% (798/4.642) del total confirmado en periodo analizado (770 cepas y 28 muestras). Entre enero y junio del año 2017 se han confirmado 346 casos de ENI (337 cepas y 9 muestras)(49).

- **Casos de ENI confirmados por laboratorio y tasa de incidencia por año.**

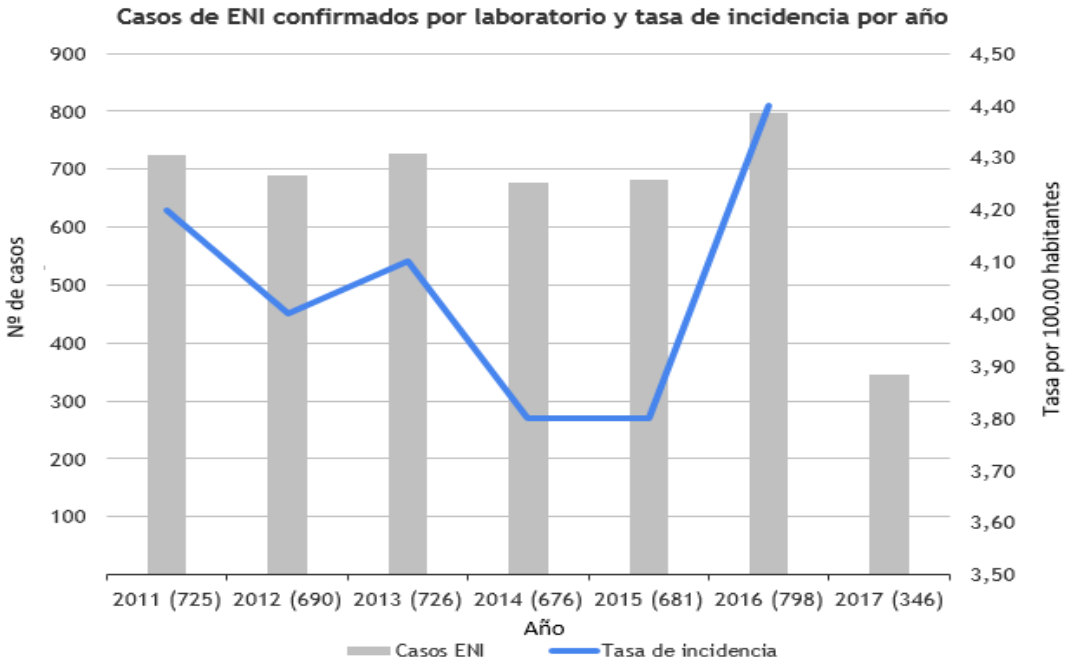

Gráfico 1: Casos de ENI confirmados por laboratorio y tasa de incidencia. Chile, 2011-2017. Fuente: Laboratorio de Referencia de Meningitis Bacteriana. Departamento de Laboratorio Biomédico. ISP. 2017.

La tasa de incidencia del total de casos de ENI confirmados por laboratorio ha variado entre 3,8 a 4,4 por 100.000 habitantes entre los años 2011 y 2016 (Gráfico 1)(49).

- **Casos de ENI confirmados por laboratorio según grupos de edad.**

En el total de casos confirmados por laboratorio entre los años 2011 y junio de 2017, 104 (2,2%) no disponen de información sobre la edad del paciente del cual provienen, por lo que se descartaron de este análisis. Sin embargo, se destaca que el porcentaje de casos sin el dato de edad ha disminuido cada año, llegando a 0 en el año 2015 y hasta la fecha.
Del total de casos que poseen la edad del paciente (4.538 casos), se observa que provienen principalmente de los siguientes grupos etarios: adultos de 65 o más años, de 30 a 49 años, y 50 a 59 años, con porcentajes de 26,8% (1.216/4.538), 16% (724/4.538) y 13,5% (611/4.538) respectivamente. En el periodo enero a junio de 2017, el 35,3% (122/346) de los confirmados correspondieron a adultos de 65 o más años, el 15,9% (55/346) al grupo etario de 30 a 49 años y el 15,3% (53/346) al grupo de 50 a 59 años(49).

Se observó que el número de casos procedentes del grupo de 12 a 23 meses, disminuyó 67,8% entre el 2011 y el 2016, el grupo de los menores de 12 meses disminuyó 46,8% en igual periodo (Gráfico 2).

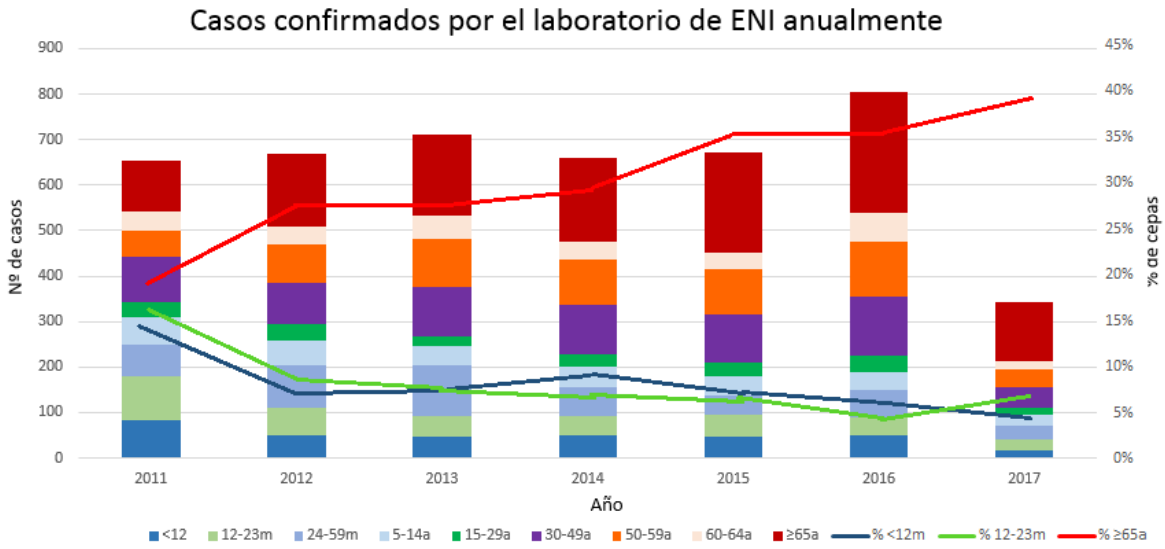

Gráfico 2: Casos confirmados por el laboratorio de ENI anualmente por grupo etario, y porcentaje correspondiente a menores de 2 y mayores de 64 años, Chile, 2011-2017. Fuente: Laboratorio de Referencia de Meningitis Bacteriana. Departamento de Laboratorio Biomédico. ISP. 2017.

- **Casos de *Streptococcus pneumoniae* confirmados según tipo de muestra.**

Del total de cepas y muestras confirmadas en el periodo 2011 a junio de 2017 (4.642 casos), el 81,5% (3.782/4.642) provenía de muestras de sangre, 13,2% (613/4.642) de muestras de LCR y 5,6% (247/4.642) de otros líquidos estériles(49).

El Gráfico 3, muestra la distribución de los casos confirmados según el tipo de muestra de origen de la cepa, para los años del 2011 a junio de 2017. Se observa que la distribución fue similar en cada año del periodo de estudio, predominando los casos confirmados a partir de muestras de sangre, seguidas de LCR(49). Los tipos de muestra tales como líquido pleural, articular, peritoneal o ascítico y otros menos frecuentes se clasificaron como “otros líquidos estériles”.

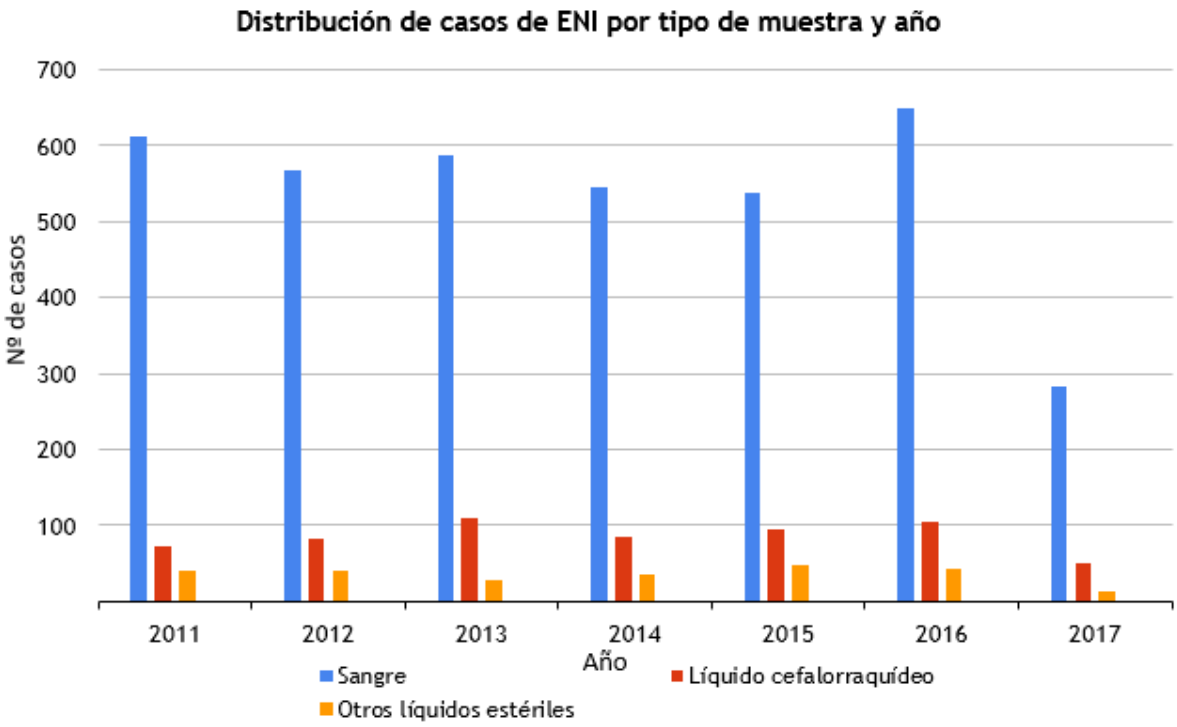

Gráfico 3: Distribución de casos de ENI por tipo de muestra y año. Chile, 2011 – 2017. Fuente: Laboratorio de Referencia de Meningitis Bacteriana. Departamento de Laboratorio Biomédico. ISP. 2017.

- **Cepas de *Streptococcus pneumoniae* por serotipo.**

En el total de cepas confirmadas en el periodo de estudio (4.529 cepas), los serotipos prevalentes fueron 3, 14 y 19A, con porcentajes de 11,3% (514/4.529), 9,4% (425/4.529) y 8,9% (405/4.529) respectivamente. Les siguen los serotipos 7F, 1 y 6A con porcentajes menores, 6,8% (308/4.529), 4,4% (199/4.529) y 3,6% 8162/4.524), respectivamente(49).

El Gráfico 4 muestra la distribución de los serotipos más frecuentes por año analizado. Se observó que en los años 2011 y 2012 predominó el serotipo 14 respecto a los otros serotipos, mientras que los años 2013 y 2015 el serotipo 3 fue el más frecuente. Por otro lado, el serotipo 19A predomino con respecto a los otros serotipos para los años 2014 y 2016(49). En el año 2017 se observa predominio de los serotipos 19A y 3.

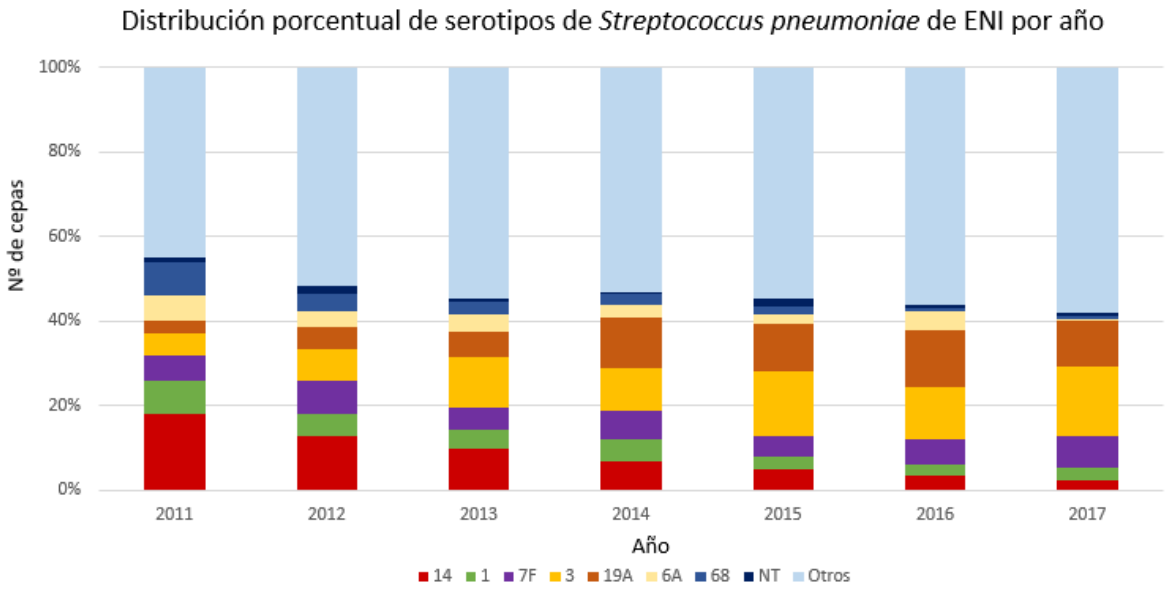

Gráfico 4: Distribución porcentual de serotipos de *Streptococcus pneumoniae* de ENI por año. Chile, 2011 – 2017. Fuente: Laboratorio de Referencia de Meningitis Bacteriana. Departamento de Laboratorio Biomédico. ISP. 2017.

La Tabla 5 muestra la evolución del total de cepas confirmadas por laboratorio correspondientes a menores de 2 años por serotipo. Al comparar la distribución de las cepas por serotipo en los años 2011 y 2016, en menores de 2 años, los principales cambios porcentuales se presentaron en los serotipos 6B, 14 y 19A. Se observa una disminución del serotipo 14, de 31% en 2011 a 1% en 2016, mientras que el serotipo 6B disminuye de un 16% en el año 2011 a un 0% en el 2016. El serotipo 19A aumentó de 3% en 2011 a 26% en 2016. En el periodo enero a junio de 2017, los serotipos prevalentes fueron 19A (17%), 3 (6%) y 14 (6%)(49).

Serotipo	2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		Total		10V	13V
	n	%S	n	%S	n	%S	n	%S	n	%S	n	%S	n	%S	n	%S		
1	3	2%	2	2%	1	1%	1	1%	2	3%	0	0%	0	0%	9	1%	X	X
3	4	2%	6	7%	8	10%	8	10%	6	8%	7	10%	2	6%	45	7%		X
4	3	2%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	3	0%	X	X
5	4	2%	2	2%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	6	1%	X	X
6A	17	10%	5	5%	2	2%	5	6%	3	4%	3	4%	1	3%	36	6%		X
6B	26	16%	6	7%	5	6%	0	0%	1	1%	0	0%	0	0%	38	6%	X	X
7F	5	3%	3	3%	1	1%	4	5%	0	0%	0	0%	0	0%	13	12%	X	X
9V	2	1%	2	2%	2	2%	1	1%	0	0%	1	1%	1	3%	9	1%	X	X
14	51	31%	14	15%	4	5%	4	5%	4	5%	1	1%	2	6%	80	13%	X	X
18C	5	3%	5	5%	1	1%	1	1%	0	0%	1	1%	1	3%	14	2%	X	X
19A	5	3%	8	9%	8	9%	21	25%	15	19%	18	26%	6	17%	81	13%		X
19F	12	7%	1	1%	2	2%	2	2%	1	1%	1	1%	0	0%	19	3%	X	X
23F	4	2%	1	1%	3	3%	4	5%	1	1%	1	1%	0	0%	14	2%	X	X
NT	2	1%	1	1%	3	3%	1	1%	2	3%	0	0%	0	0%	9	1%		
Otros	24	14%	35	38%	43	49%	32	38%	44	56%	36	52%	22	63%	236	39%		
Total	167		91		87		84		79		69		35		612			

Tabla 5: Número y porcentaje de cepas de *Streptococcus pneumoniae* confirmadas por laboratorio en menores de 2 años, por serotipo y año. Chile, 2011 – 2017. Fuente: Laboratorio de Referencia de Meningitis Bacteriana. Departamento de Laboratorio Biomédico. ISP. 2017.

Dentro del plano internacional en una revisión sistemática de Latinoamérica y el Caribe muestra que el *S. pneumoniae* es el agente etiológico dominante de la neumonía adquirida en la comunidad, seguido por el *H. influenzae* y el *M. pneumoniae*. El serotipo 14 es el más prevalente seguido por el 1 y el 5. El serotipo 14 es mucho más prevalente en menores de 2 años y los serotipos 1 y 5 en mayores de 2 años(52).

La vigilancia realizada en los Estados Unidos muestra datos que denotan un aumento de resistencia completa a la penicilina en el neumococo (dentro de un 14,7% - 18,4% desde 1998), y los subtipos que más afectan a los niños son 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F(53). En Colombia se han hecho aislamientos de *S. pneumoniae* desde 1994 hasta el año 2009 de los cuales son: 1.841 en menores de 6 años, 332 en niños de 6 a 14 años y 1.222 en mayores de 14 años. Para junio de 2010 los serotipos más frecuentemente presentes como resistentes fueron el 14, 6B, 18C 19A, 19F en los menores de 6 años(52). El 94% y el 99,4% eran sensibles a cefotaxima para infecciones meníngeas y no meníngeas, respectivamente. En

cuanto a los macrólidos, la resistencia a la eritromicina va unida a la de la penicilina en donde existe una resistencia muy elevada a la eritromicina(45,8%)(50), y para la clindamicina, se encuentra un porcentaje de resistencia del 29,9%(51, 54, 57)

El fenotipo mayoritario que se encuentra es el de tipo MLS_b constitutivo (70,8%), siendo también el fenotipo de resistencia más frecuente en Europa, especialmente en Bélgica, Francia, Polonia, Italia y España(54, 58).

4.6- Métodos de detección fenotípica de mecanismos de resistencia en *Streptococcus*

Existen diferentes métodos de susceptibilidad antimicrobiana, donde encontramos que las más utilizadas son las técnicas de Dilución en Caldo, la técnica de Epsilometría y el método de difusión en agar de Kyrbi–Bauer o Mueller-Hinton. A partir de cada una de estas técnicas es posible obtener diferente información, como la CMI, CMB y el halo de inhibición que se utilizan para interpretar si el microorganismo es susceptible o resistente frente a un determinado antimicrobiano(59).

a) Método de Dilución de Caldo

Método estandarizado en los años 70 por el Estudio Cooperativo Internacional, posteriormente estandarizado por la CLSI(26). Consiste en exponer a las cepas a estudiar a diferentes concentraciones de antimicrobianos, en diluciones a la mitad y observar el crecimiento de los microorganismos para luego definir la CMI. La técnica permite conocer la CMI y la CMB. La CMI corresponde a la mínima concentración en donde no se observa desarrollo (turbidez)(59). La CMI se expresa en µg/ml. Teniendo en cuenta el valor de CMI obtenido para esa cepa, es necesario recurrir a las tablas para definir, según los valores de CMI, si las cepas en estudio son sensibles o resistentes a un determinado antibiótico o antimicrobiano(60).

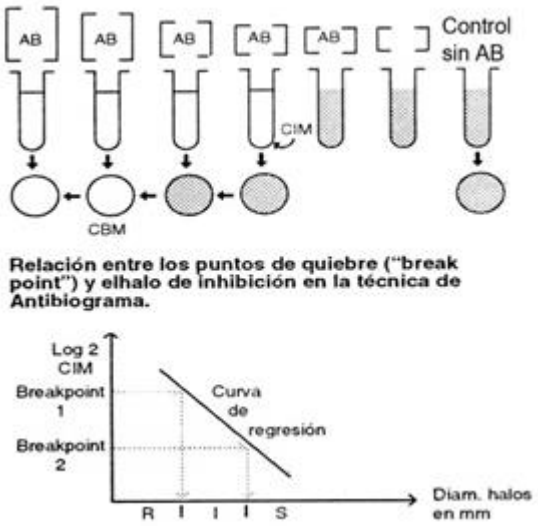

Figura 1: Determinación de la CMI y CMB. Imagen adaptada de Herrera ML. 1999.

b) Método de Epsilometría

Se puede determinar la concentración inhibitoria mínima (CMI), mediante utilización de una tira de plástico no porosa de 6 cm de largo por 5 mm de ancho que incorpora un gradiente predefinido de antimicrobiano equivalente a 15 diluciones(61).

El protocolo para preparar el inóculo es el mismo que para la difusión en disco. Siguiendo el método de difusión, una vez inoculado la placa de agar con el microorganismo, se coloca la tira de E-test sobre su superficie, produciéndose de forma inmediata una difusión del antibiótico desde el soporte hasta el agar, creándose de este modo, a lo largo de la tira, un gradiente exponencial de las concentraciones del antimicrobiano(62). Tras la incubación de las placas, se puede observar una zona de inhibición elipsoidal y simétrica. Después de la incubación la CMI será el valor obtenido en el punto en el que el extremo de inhibición intersecta con la tira(8). En contra de lo que ocurre en la difusión en disco donde la orientación del disco no importa, si la tira es posicionada al revés no se observa elipse de inhibición ya que el gradiente de concentraciones se sitúa solo sobre una de las caras de la tira(63).

El E-test se considera como un método alternativo para el estudio cuantitativo de la sensibilidad antimicrobiana del que cabe destacar su sencillez y buena correlación con la técnica estándar de dilución en agar para el estudio de la CMI(64).

Figura 2: Método de difusión en agar comercial E-test de Laboratorio Biomérieux. Imagen adaptada de Velázquez SJ. 2009.

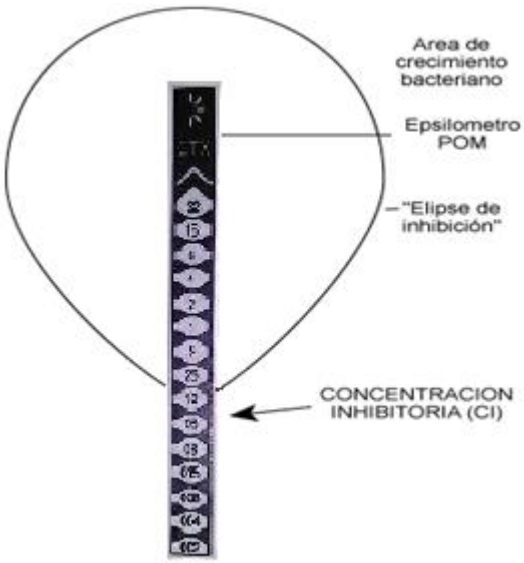

Figura 3: Método de difusión en agar comercial E-test de Laboratorio Biomérieux. Imagen adaptada de Velázquez SJ. 2009.

c) Método de difusión en Agar de Kirby–Bauer

El método de difusión en disco está basado en la presencia o ausencia de una zona de inhibición de crecimiento, que se mide en milímetros(65). La interpretación de la prueba está basada en la correlación entre el diámetro de la zona de inhibición (mm) con la CMI (µg/mL) para cada antimicrobiano y microorganismo(61).

El método consiste en inocular la muestra en suspensión de caldo Mueller-Hinton o solución salina al 0.9% con una concentración McFarland de 0.5 en agar Mueller-Hinton y disponer equitativamente sensidiscos impregnados con antimicrobianos, incubar desde 18 a 24 horas y medir en mm los halos de inhibición, sitios donde la bacteria no crece debido al efecto del antimicrobiano(66).

Para llevar a cabo esta técnica de una manera correcta es necesario seguir los estándares dictaminados en los documentos del CLSI.

El procedimiento cuenta con los siguientes pasos:

1. Seleccionar las colonias
2. Preparar una suspensión del inóculo
3. Estandarizar la suspensión del inóculo
4. Inocular la placa
5. Colocar discos de antimicrobiano
6. Incubar la placa
7. Medir las zonas de inhibición
8. Interpretar los resultados

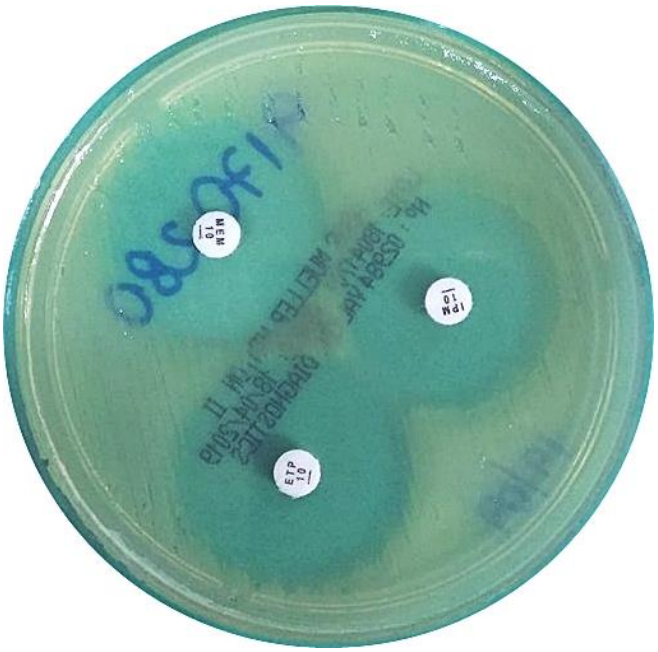

Figura 4: Método de difusión en disco en agar comercial Mueller-Hinton II Valtek con sensidiscos carbapenémicos.

5. CONCLUSIÓN

La penicilina continúa siendo universalmente activa in vitro contra *S. pyogenes*. Se han descrito cifras de resistencia a eritromicina en diversos países con porcentajes heterogéneos, entre 0,5 y 60%.

Las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos en aislamientos de SGB, son cruciales para la selección adecuada de la profilaxis antibiótica en mujeres alérgicas a la penicilina (alto riesgo de anafilaxia), debido a que la resistencia a clindamicina está aumentando entre los aislamientos de SGB, agente comúnmente utilizado como profilaxis en estos pacientes. Las pruebas de D-test, utilizando el método de difusión de doble disco, es útil para identificar aislados resistentes a eritromicina y clindamicina

La incidencia de neumococos resistentes a la penicilina se ha incrementado dramáticamente en todo el mundo, especialmente en los años noventa. La diseminación de la resistencia a la penicilina parece deberse a la diseminación global de varios clones que portan tanto genes modificados de PBP como genes que codifican resistencia a otras clases de antibióticos, incluidos los macrólidos, la tetraciclina, el cloranfenicol y el trimetoprim-sulfametoxazol. Esta situación se ve agravada por la reciente aparición de resistencia de alto nivel a las cefalosporinas de tercera generación de espectro extendido. El antibiótico de último recurso para el tratamiento de infecciones neumocócicas resistentes a múltiples fármacos se ha convertido en el glucopéptido vancomicina. La rápida aparición de cepas de enterococos que albergan el complejo del gen de resistencia a la vancomicina en una forma altamente transferible plantea una gran preocupación por la posible transferencia de resistencia a la vancomicina a los neumococos resistentes a múltiples fármacos. Además de una aplicación más restringida de antibióticos, existe una necesidad urgente de nuevos agentes antimicrobianos que puedan superar los mecanismos desarrollados de resistencia a los antibióticos.

6. REFERENCIAS

1. Velázquez N. Detección de Resistencia bacteriana por métodos moleculares en bacterias Gram positivas y negativas. Hospital Infantil de México, Laboratorio de Investigación en Bacteriología. 2012.

2. Saavedra A, Paz V, Naranjo Borquez KY, Amthauer Pizarro CA, Traipe Alvarez DN. Estudio de portación de Streptococcusagalactiae, serotipificación y detección de fenotipos de resistencia MLSb, M y L, en una población femenina sana en edad fértil de estudiantes de Tecnología Médica, sede República de la Universidad Andrés Bello: Universidad Andrés Bello (Chile); 2015.

3. Alarcón P. Mecanismos de Resistencia Bacteriana en Cocaceas Gram Positivas. Sección Bacteriología ISP Ministerio de Salud. 2013.

4. Rodríguez G. Géneros Streptococcus y Enterococcus. Universidad de la República Facultad de Medicina Departamento de Bacteriología y Virología Temas de bacteriología y virología médica 3a ed Montevideo: Oficina del Libro–FEFMUR. 2008:321-39.

5. García P. Resistencia bacteriana en Chile. Revista chilena de infectología. 2003;20:11-23.

6. Montes M, García-Arenzana JM. Género Streptococcus: una revisión práctica para el laboratorio de microbiología. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2007;25:14-20.

7. J. A. Steptococcus. In: Valdivia UPd, editor. Universidad Pedro de Valdivia2012.

8. Perilla MJ, Ajello G, Bopp C, Elliott J, Facklam R, Knapp JS, et al. Manual de Laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la Salud Pública en el mundo en desarrollo. Medicina & Laboratorio. 2009;15(01-02):69-91.

9. Camponovo C. Problemas de resistencia en Streptococcus pyogenes. Revista chilena de infectología. 2002;19:107-10.

10. Casellas JM. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. Revista Panamericana de Salud Pública. 2011;30:519-28.

11. Aracil B, Alós J. Streptococcus pyogenes resistente a los macrólidos. Servicio de Microbiología España-Madrid[Internet] Disponible en: https://www seimc org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/feno tm pdf. 2002.

12. Traverso F, Sparo M, Rubio V, Sáez Nieto J. Caracterización molecular de Streptococcus pyogenes causantes de enfermedad invasora y síndrome de shock tóxico estreptocócico. Revista argentina de microbiología. 2010;42(1):41-5.

13. Silva-Costa C, Ramirez M, Melo-Cristino J. Identification of macrolide-resistant clones of Streptococcus pyogenes in Portugal. Clinical microbiology and infection. 2006;12(6):513-8.

14. Liébana-Martos MdC, Cabrera-Alavargonzalez J, Rodríguez-Granger J, Miranda-Casas C, Sampedro-Martínez A, Gutiérrez-Fernández J, et al. Serotipos y patrones de resistencia antibiótica en aislados betahemolíticos de Streptococcus agalactiae de madres colonizadas y recién nacidos con enfermedad invasiva. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2015;33(2):84-8.

15. Ruvinsky RO. Streptococcus pneumoniae: Epidemiología y resistencia a antimicrobianos de las enfermedades invasoras en Latinoamérica. Revista chilena de infectología. 2001;18:10-4.

16. Noda Albelo A, Vidal Tallet LA, Tallet V, Iavier J, Hernández Álvarez L. Streptococcus pneumoniae, mecanismos de resistencia antimicrobiana. Revista Cubana de Pediatría. 2011;83(3):288-95.

17. Cifuentes M, Valdivieso F, Ojeda A, Prado V. Emergencia de resistencia a macrólidos en Streptococcus pyogenes. Revista médica de Chile. 1999;127(12):1447-52.

18. Torres C. Lectura interpretada del antibiograma de cocos grampositivos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2002;20(7):354-63.

19. Instituto de Salud Pública de Chile MdS. Boletín de Resistencia antimicrobiana. 2015.

20. Marchetti ML, Errecalde JO, Mestorino ON. Resistencia bacteriana a los antimicrobianos ocasionada por bombas de eflujo. Analecta Veterinaria. 2011;31.

21. Tait-Kamradt A, Clancy J, Cronan M, Dib-Hajj F, Wondrack L, Yuan W, et al. mefE is necessary for the erythromycin-resistant M phenotype in Streptococcus pneumoniae. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1997;41(10):2251-5.

22. Palavecino E, Riedel I, Berrios X, Bajaksouzian S, Johnson D, Kaplan E, et al. Prevalence and mechanisms of macrolide resistance in Streptococcus pyogenes in Santiago, Chile. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2001;45(1):339-41.

23. Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood J, Seppala H. Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1999;43(12):2823-30.

24. Clancy J, Petitpas J, Dib-Hajj F, Yuan W, Cronan M, Kamath AV, et al. Molecular cloning and functional analysis of a novel macrolide-resistance determinant, mefA, from Streptococcus pyogenes. Molecular Microbiology. 1996;22(5):867-79.

25. Mensa J, García-Vázquez E, Vila J. Macrólidos, cetólidos y estreptograminas. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2003;21(4):200-8.

26. (CLSI) CaLSI. M100. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 2017.

27. Salud Md. Vigilancia de laboratorio de enfermedad invasora por Streptococcus pyogenes, Chile 2009-2013. Chile. 2013.

28. Wessels MR. Streptococcal pharyngitis. New England Journal of Medicine. 2011;364(7):648-55.

29. Lozada MAR, Jaramillo MIM, Puerta BSR, Ramos CPA. Infección y colonización faríngea asintomática de niños por Streptococcus pyogenes. Iatreia. 2012;25(3):203-9.

30. Restrepo CMD, Sánchez DM, Uribe OL. Perfil de sensibilidad de S. agalactiae obtenido a partir de muestras de introito vaginal y región perineal de mujeres gestantes de Medellín (Colombia). Nova. 2011;9(15):31-4.

31. Shaikh N LE, Martin JM. . Prevalence of streptococcal pharyngitis and streptococcal carriage in children: a meta-analysis. Pediatrics. 2010;126(557):64.

32. Dumre SP SK, Adhikari N, Acharya D, Karki M, Bista S,. Asymptomatic throat carriage rate and antimicrobial resistance pattern of *Streptococcus pyogenes* in Nepalese school children. Kathmandu Univ Med J (KUMJ. 2009;28(392):6.

33. Begovac J BE, Benic B, Desnica B, Maretic T, Basnec A, . Asymptomatic pharyngeal carriage of beta-haemolytic streptococci and streptococcal pharyngitis among patients at an urban hospital in Croatia. European journal of epidemiology. 1993;9(205):10.

34. Fuentes Y MI, Sierra G, Pérez L, López O, Valdés M. Colonización faríngea por bacterias potencialmente patógenas en niños sanos de una escuela primaria. . Rev Cubana Med Trop. 2009;61(50):6.

35. Villafañe-Ferrer LM, Castro-Orozco R. Portación faringea de Streptococcus pyogenes y perfiles de sensibilidad en escolares de Cartagena. Duazary: Revista Internacional de Ciencias de la Salud. 2015;12(2):112-7.

36. Salud Md. Vigilancia de laboratorio de enfermedad invasora por Streptococcus agalactiae. Chile. 2014.

37. Heelan JS, Hasenbein ME, McAdam AJ. Resistance of group B streptococcus to selected antibiotics, including erythromycin and clindamycin. Journal of clinical microbiology. 2004;42(3):1263-4.

38. Nagano N, Nagano Y, Toyama M, Kimura K, Shibayama K, Arakawa Y. Penicillin-susceptible group B streptococcal clinical isolates with reduced cephalosporin susceptibility. Journal of clinical microbiology. 2014:JCM. 01291-14.

39. Weyland B, Losada M, Mollerach M, Bonofiglio L, De Mier C, García S, et al. Evaluación de la actividad de diferentes antimicrobianos frente a Streptococcus pneumoniae provenientes de pacientes adultos con neumonía adquirida en la comunidad. Revista americana de medicina respiratoria. 2011;11(3):117-24.

40. Villar HE, Jugo MB. Emergencia de Streptococcus agalactiae con resistencia de alto nivel a gentamicina y streptomicina en Buenos Aires, Argentina. Revista Española de Quimioterapia. 2013;26(2):112-5.

41. Palacios-Saucedo GC, Hernández-Hernández TI, Rivera-Morales LG, Briones-Lara E, Caballero-Trejo A, Vázquez-Guillén JM, et al. Infección perinatal por estreptococo del grupo B: panorama global, en América Latina y en México. Gaceta Médica de México. 2017;153(3):361-70.

42. Mollerach A ME, Massa R, Di Conza J. Streptococcus agalactiae aislados en Santa Fe, Argentina: estudio de la sensibilidad a antibióticos de uso clínico y mecanismos de resistencia a eritromicina y clindamicina. Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica. 2007(25):68-7.

43. Dechen TC, Sumit K, Ranabir P. Correlates of vaginal colonization with group B streptococci among pregnant women. Journal of global infectious diseases. 2010;2(3):236.

44. Liliana V, Javier O, Claudia D, Fabiana G, José B, Helena FAL. Opinión de expertos sobre infecciones congénitas y perinatales. Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría. 2015;28(111):566-9.

45. García DA, Mojica ME, Méndez IA, Pachón DP, Prieto AC, Santamaría EV, et al. The prevalence of Streptococcus agalactiae in pregnant women attending the Hospital

Militar Central, Bogota, Colombia, 2010. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología. 2011;62(4):302-7.

46. Alvarez Cruz A, Toraño Peraza G, Llanes Caballero R. Colonización vaginal/rectal por Streptococcus agalactiae en gestantes de Melena del Sur, Cuba. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2014;66(3):415-23.

47. Wang Y-H, Chen C-L, Hou J-N, Wang Y-R, Lin T-Y, Wang M-H, et al. Serotype distribution and resistance genes associated with macrolide and fluoroquinolone resistance in Streptococcus agalactiae isolates from a hospital in southern Taiwan. Biomedical journal. 2015;38(3).

48. Faccone D, Guerriero, L., Méndez, E., Errecalde, L., Cano, H., Yoya, N., Togneri, A., Romanowski, V., Galas, M. Fluoroqinolone-resistant Streptococcus agalactiae isolates from Argentina. Revista argentina de microbiología. 2010:203-7.

49. Instituto de Salud Pública de Chile MdS. Vigilancia de Laboratorio de Streptococcus pneumoniae procedente Enfermedad Invasora. Chile, 2011 – 2017. Boletín vigilancia de laboratorio. 2017;7(7).

50. Lynch JP III GG, Zhanel GG. . Streptococcus pneumoniae: Epidemiology and risk factors, evolution of antimicrobial resistance, and impact of vaccines. . Curr Opin Pulm Med. 2010;16(217):25.

51. García-Vera C, Andrés MÁR, Navarro TA, Hernandez IM, Laita JAC, Costa RM, et al. Serotipos de neumococo en nasofaringe de niños preescolares sanos tras la vacunación antineumocócica conjugada heptavalente. Medicina clínica. 2011;137(1):1-7.

52. Agudelo B. Tratamiento de la neumonía por Streptococcus pneumoniae y consideraciones de resistencia. Neumol pediátr. 2013;8(2):86-90.

53. Doern GV RS, Miller A,. Antimicrobial resistance among Streptococcus pneumoniae in the United States: have we begun to turn the corner on resistance to certain antimicrobial classes? Clin Infect Dis. 2005;41(139):28.

54. Méndez-Lage S, Losada-Castillo I, Agulla-Budiño A. Streptococcus pneumoniae: distribución de serotipos, sensibilidad antibiótica, factores de riesgo y mortalidad en Galicia en un periodo de 2 años. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2015;33(9):579-84.

55. Tubau Quintano F, Josefina L, Rogelio M. Resistencia antibiótica en Streptococcus pneumoniae. Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas. Hospital Llobregat. Barcelona.

56. Courvalin P. Vancomycin resistance in gram-positive cocci. Clinical Infectious Diseases. 2006;42(Supplement_1):S25-S34.

57. Alfayate-Miguélez S, Gómez JR, de Querol MS-S, Gómez CG, Simón MP, Romero MO, et al., editors. Sensibilidad de Streptococcus pneumoniae en niños portadores sanos en Murcia (España). Anales de Pediatría; 2015: Elsevier.

58. Trotter CL WP, Andrews NJ, Slack M, Efstratiou A, George R,. Epi-demiology of invasive pneumococcal disease in the pre-conjugate vaccine era:England and Wales, 1996-2006. J Infect. 2010;60(200):8.

59. Malbrán C. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. MIC testing. 2012;32(2):1-43.

60. Herrera ML. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: métodología de laboratorio. Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr Carlos Sáenz Herrera. 1999;34:33-41.

61. Taroco R, Seija V, Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. Temas de Bacteriología y Virología Médica, Oficina del libro FEFMUR, Uruguay. 2006:665-8.

62. Triantafilo V. Evaluación e indicación de las técnicas de difusión-dilución (epsilometría). Revista chilena de infectología. 2002;19:85-7.

63. Cantón R, Sánchez JE, Gómez-Lus ML, Martínez LM, Rodríguez-Avial C, Vila J. Procedimientos en microbiología clínica. Métodos Básicos Para el Estudio de la Sensibilidad a los Antimicrobianos en Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Editor Picazo J J. 2000.

64. Velásquez SJ. Prueba Epsilon (Etest). CES Medicina. 2009;12(1):34-41.

65. Prat S. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar. National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS). 2002(1).

66. Bernal M, Guzmán M. El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. Biomédica. 1984;4(3-4):112-21.