



BOLETIN

Instituto de Salud Pública de Chile

Vol. 2, No. 15, noviembre 2012.

Vigilancia de laboratorio de enfermedad invasora por *Streptococcus pyogenes*, Chile 2009 – 2012.

1. Antecedentes

Streptococcus pyogenes, pertenece a los *Streptococcus* β -hemolíticos del grupo A por la presencia del antígeno polisacárido de Lancefield, es una cocócea Gram positiva dispuesta en pares y cadenas, anaerobia facultativa, inmóviles, no formadores de esporas, catalasa y oxidasa negativo. Para su crecimiento requiere de CO₂, por lo cual se considera capnófila; crece en agar sangre de cordero originando colonias blancas grisáceas rodeadas por una marcada β -hemólisis (1, 2).

Streptococcus pyogenes es uno de los patógenos bacterianos de mayor importancia para el ser humano, es la causa bacteriana más frecuente de faringitis aguda y también es responsable de una diversidad de infecciones cutáneas y sistémicas como fascitis necrosante y shock séptico; tiene gran importancia desde el punto vista clínico al provocar secuelas no supuradas como la fiebre reumática y la glomerulonefritis aguda postestreptocócica (1, 2, 3).

En Chile, durante 1995 se notificaron 138 casos de enfermedad invasora por *Streptococcus pyogenes*, con tasas que oscilaron entre 0,16 por 100.000 habitantes (Servicio de Salud Metropolitano Norte) y 2,00 por 100.000 habitantes (Servicio de Salud Metropolitano Central). La letalidad global resultó ser de 28,2%, registrándose los valores más altos en los cuadros de shock séptico (60%). Entre 1997 y 1998 se observó disminución del número de

infecciones invasoras por *S. pyogenes*, alcanzando un promedio de 2,6 casos al mes. Sin embargo, durante enero de 1999 se notificaron 22 casos de infección severa, con una tasa de letalidad de 41%, con un total de 86 casos en el año. Entre enero y abril del año 2000 se comunicaron 10 casos de infecciones invasoras por *S. pyogenes* (4).

Streptococcus pyogenes ha sido estudiado, desde el punto de vista epidemiológico, fundamentalmente en base a la tipificación de sus proteínas M y T. Hasta el año 2000, se han identificado más de 100 serotipos predominando en las enfermedades invasoras, cepas M1T1 y M3T3. En un estudio de 36 cepas de *S. pyogenes* aisladas de cuadros invasores se identificó el 38% de ellas como M1T1. Otro de los factores ampliamente estudiados son las exotoxinas pirogénicas, al respecto es importante mencionar que la mayoría de las cepas invasoras producen exotoxina pirogénica A (SpeA), que tiene la particularidad de actuar como superantígeno (4, 5, 6).

La penicilina continúa siendo universalmente activa in vitro contra *S. pyogenes* (7). Se describen en diversos países cifras de resistencia a eritromicina que van de 0,5% a 60%. En Chile, estudios realizados en nuestro país entre los años 1990 y 1992, revelaban una sensibilidad de 100% en cepas de *S. pyogenes* frente a eritromicina y nuevos macrólidos (8).

La presencia de resistencia a eritromicina y clindamicina nos permite identificar los fenotipos de resistencia M, MLS_C, MLS_I y L, los cuales han sido identificados en Chile, siendo aún de baja frecuencia. Se considera fenotipo M a la presencia de resistencia a eritromicina y sensibilidad a clindamicina, codificado por el gen *mef(E)* que a través de un mecanismo de eflujo confiere resistencia a macrólidos y no a lincosamidas; también existe el fenotipo MLS, el cual puede tener dos formas de expresión de resistencia: constitutiva (fenotipo MLS_C) o inducida (fenotipo MLS_I). El primer fenotipo es cuando se observa resistencia a ambos antimicrobianos en la prueba de difusión, y el segundo fenotipo de resistencia se identifica cuando se observa un achatamiento del halo de inhibición de la clindamicina en la zona cercana al disco de eritromicina; estos

fenotipos son codificados por el gen *erm(A)* y *erm(B)*, el cual otorga resistencia a macrólidos y lincosamidas, a través de un mecanismo de metilación que es el más frecuente. Existe otro fenotipo menos frecuente denominado L, donde se observa resistencia a clindamicina y sensibilidad a eritromicina codificado por el gen *Inu* (9).

2. Materiales y métodos

Se analizó la base de datos correspondiente a todas las cepas confirmadas de *Streptococcus pyogenes* en el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), entre enero de 2009 y julio de 2012.

El ISP, es el Laboratorio Nacional y de Referencia para *Streptococcus pyogenes*, y le corresponde según lo establece el Reglamento sobre Notificación de Enfermedades Transmisibles de Declaración Obligatoria D.S. Nº158/2004, confirmar los aislamientos de *Streptococcus pyogenes* de origen invasor realizados por los laboratorios clínicos públicos y privados del país.

El Laboratorio de Referencia de Cocáceas Gram positivas realiza la confirmación microbiológica a través de pruebas bioquímicas convencionales, tales como, tipo de hemólisis, tinción de gram, prueba de catalasa, Bacitracina, PYR, DNasa, Vogues Proskauer y la detección del antígeno de grupo A mediante aglutinación por látex.

El estudio de la susceptibilidad antimicrobiana es realizado por el método de difusión en agar, según estándares del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).

La serotipificación para proteína T, es realizada con antisueros comerciales (Denka Seiken, Tokio, Japón) de acuerdo a instrucciones del fabricante. La tipificación para proteína M, se realiza mediante técnicas de biología molecular, en primer lugar identificando el gen *emm*, el cual codifica a la proteína M, mediante una reacción de polimerasa en cadena; en segundo lugar se

secuencia la región hipervariable del gen (amino terminal), y según similitud de las secuencias nucleotídicas con el gen *emm* de referencia se identifica proteína M (*emm* typing), mediante un software bioinformático (<http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/strepblast.htm>, CDC, Atlanta, USA) (6, 10).

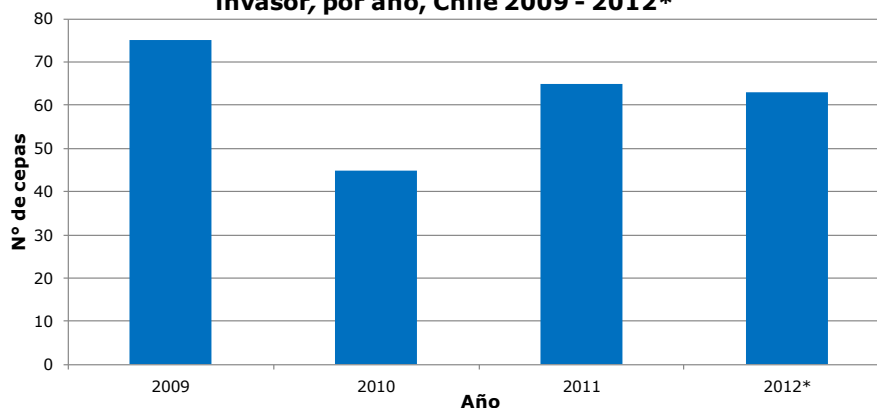
Los datos obtenidos mediante la vigilancia de laboratorio se capturaron y procesaron en el paquete Excel 2007 y el software estadístico Stata 11. Para el análisis de las cepas de *Streptococcus pyogenes* se depuró la base de modo de asegurar que los análisis correspondan a casos. Los resultados se representaron en tablas y gráficos para su mejor comprensión.

3. Resultados vigilancia de *Streptococcus pyogenes* invasor 2009 - 2012

En el periodo comprendido entre enero de 2009 y julio de 2012, se confirmaron en el ISP un total de 248 cepas de *S. pyogenes*. En el año 2009 se confirmó el mayor número de cepas (75) y el 2010 la menor cantidad de cepas (45) (figura 1). Es importante destacar que además de las cepas correspondientes a cuadros invasores, también se confirmaron en el periodo 59 cepas de cuadros no invasores, las cuales no fueron incluidas en el análisis que se presenta a continuación.

Podemos observar que el total de cepas confirmadas en el año 2012 es similar al de los años anteriores, aún cuando la información de este año corresponde solo a los meses de enero a julio. Esto indicaría un aumento en las cepas confirmadas de *S. pyogenes*, ocurrido este último año.

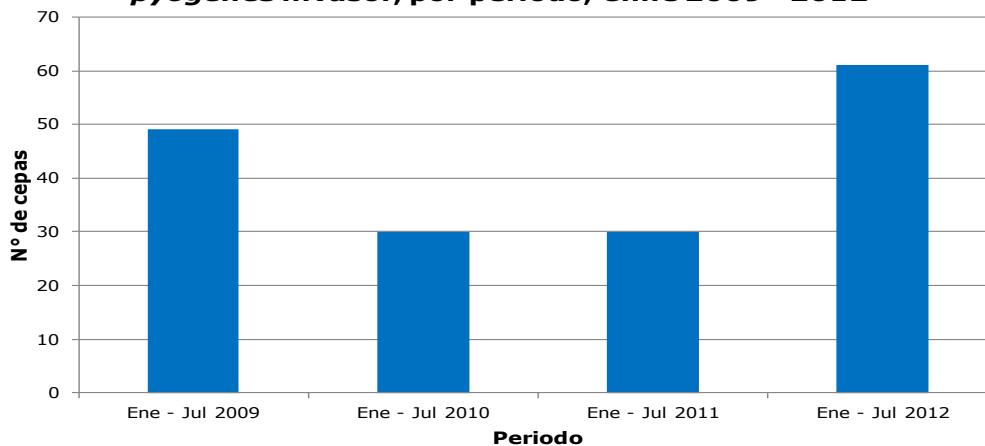
Figura 1: Cepas confirmadas de *Streptococcus pyogenes* invasor, por año, Chile 2009 - 2012*



Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas gram positivas. Departamento de Laboratorio Biomédico. Instituto de Salud Pública de Chile.

En la figura 2, al comparar el periodo de enero a julio de cada año, se observa un aumento en el número de cepas confirmadas de *S. pyogenes* en el año 2012. Este incremento fue de un 24,5% en comparación con el mismo periodo el año 2009, y de un 103,3% en comparación con el año 2011.

Figura 2: Cepas confirmadas de *Streptococcus pyogenes* invasor, por periodo, Chile 2009 - 2012



Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas gram positivas. Departamento de Laboratorio Biomédico. Instituto de Salud Pública de Chile.

Cepas de *S. pyogenes* invasor por Región y Servicio de Salud.

En el periodo 2009 – 2012, el 52,4% de las cepas confirmadas de *S. pyogenes* provenían de la Región Metropolitana, principalmente de establecimientos privados y del Servicio de Salud Metropolitano Sur Oriente; seguida por las regiones de Valparaíso y Biobío (tabla 1).

Tabla 1: Cepas confirmadas de *Streptococcus pyogenes* invasor por Región y Servicio de Salud, Chile 2009 - 2012*

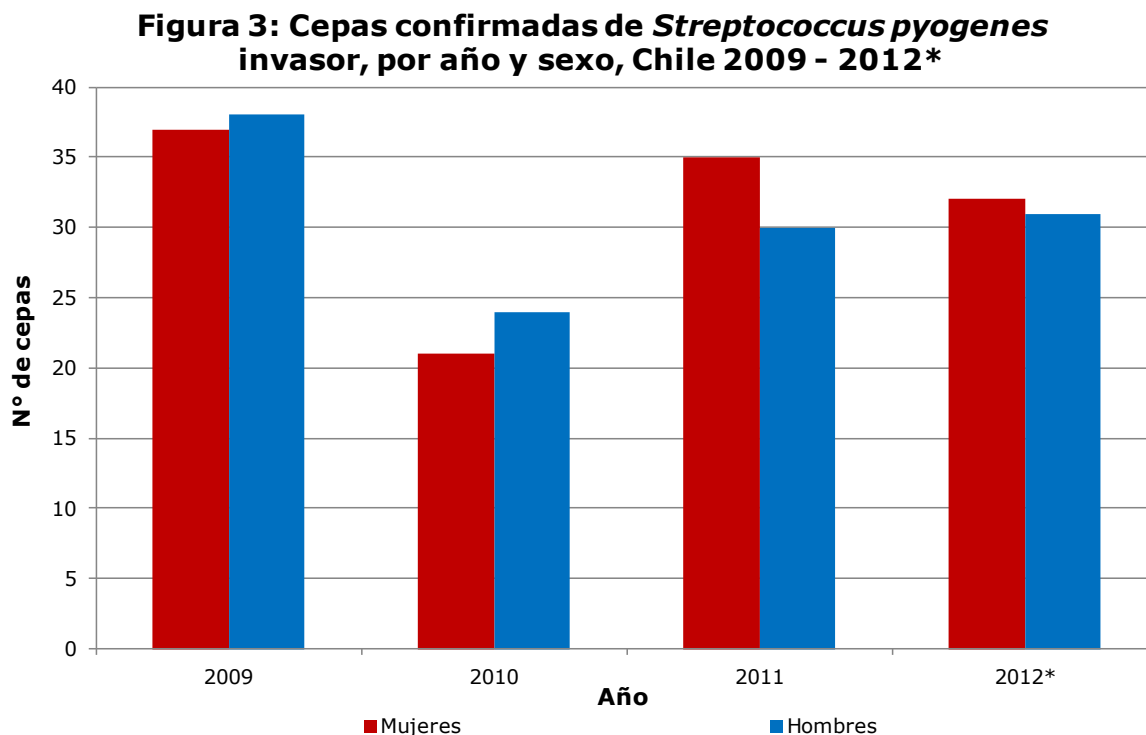
Región	Servicio de Salud	N° de cepas				Total	
		2009	2010	2011	2012	SS	Región
Arica y Parinacota	Arica	0	1	1	3	5	5
Tarapacá	Iquique	1	0	2	0	3	3
Antofagasta	Antofagasta	1	0	1	0	1	2
	Otros	0	0	1	0	1	
Coquimbo	Coquimbo	0	1	4	3	8	8
Valparaíso	Valparaíso San Antonio	3	3	2	1	9	38
	Viña del Mar Quillota	10	4	3	6	23	
	Aconcagua	2	0	0	0	2	
	Privados	4	0	0	0	4	
Metropolitana	Metropolitano Central	2	0	1	1	4	130
	Metropolitano Occidente	3	2	5	2	12	
	Metropolitano Norte	2	4	3	1	10	
	Metropolitano Sur	7	4	4	5	20	
	Metropolitano Sur Oriente	5	3	10	6	24	
	Metropolitano Oriente	1	4	1	2	8	
	Privados	12	4	9	13	38	
Otros	4	7	2	1	14		
O'Higgins	L. B. O'Higgins	2	0	3	3	8	11
	Privados	0	0	0	1	1	
	Otros	2	0	0	0	2	
Maule	Del Maule	4	1	4	2	11	11
Biobío	Concepción	0	0	2	1	3	12
	Talcahuano	2	1	0	0	3	
	Arauco	0	0	0	0	0	
	Biobío	0	0	1	1	2	
	Ñuble	0	2	0	0	2	
Privados	0	0	1	1	2		
Araucanía	Araucanía Sur	3	0	3	2	8	8
Los Ríos	Valdivia	2	2	0	3	7	8
	Privados	0	1	0	0	1	
Los Lagos	Reloncaví	2	0	0	3	5	9
	Chiloé	0	1	0	0	1	
	Osorno	1	0	1	0	2	
	Privados	1	0	0	0	1	
Aysén	Aysén	0	0	0	1	1	1
Magallanes	Magallanes	0	0	1	1	2	2
Total		76	45	65	63	248	

Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas gram positivas, Departamento de Laboratorio Biomédico, ISP.

*Información hasta julio 2012.

Cepas de *S. pyogenes* invasor por año y sexo.

En el periodo de estudio, el 50,4% de las cepas confirmadas de *S. pyogenes* correspondieron al sexo femenino (figura 3). Mientras en los años 2009 y 2010 predominó el sexo masculino, en los años 2011 y 2012 la mayor cantidad de cepas correspondió a mujeres.



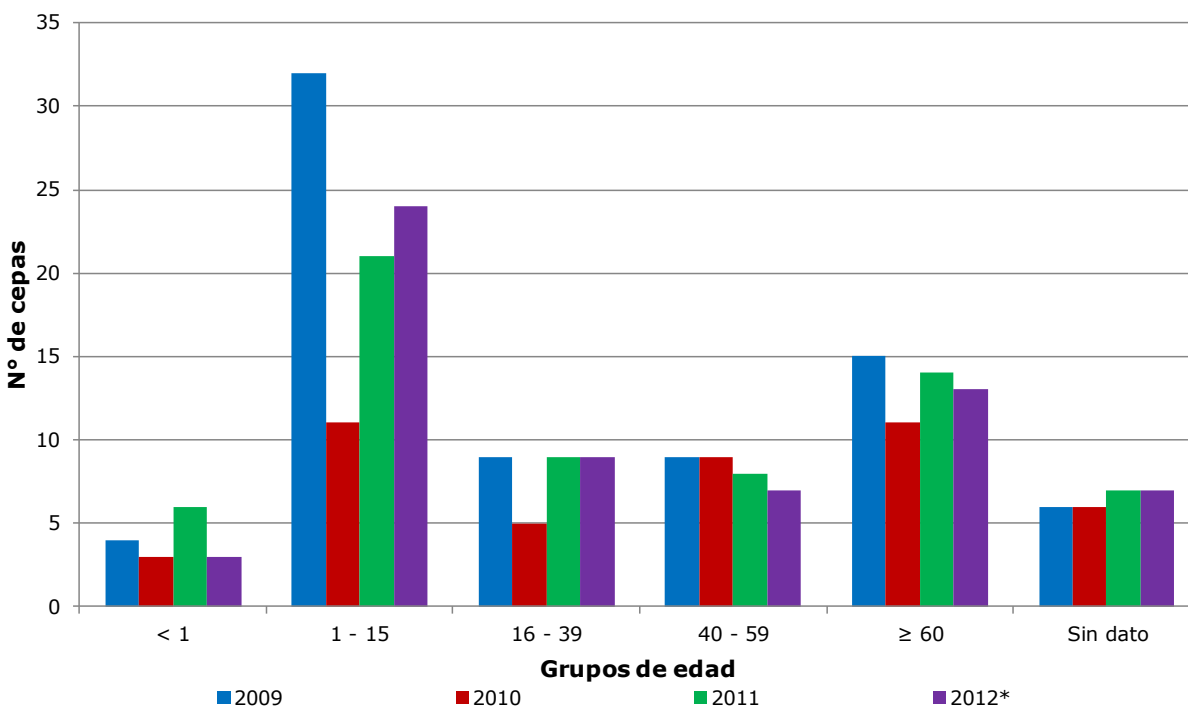
Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas gram positivas. Departamento de Laboratorio Biomédico. Instituto de Salud Pública de Chile.

*Información hasta julio 2012.

Cepas de *S. pyogenes* invasor por año y grupos de edad.

En el periodo de estudio, los grupos de edad más frecuentes en las cepas confirmadas de *S. pyogenes*, fueron los correspondientes a los rangos etarios de 1 a 15 años, y de 60 o más años. Al analizar separadamente cada año del periodo 2009 – 2012, la mayor frecuencia se observó en el grupo de 1 a 15 años, y durante el año 2010 los grupos más frecuentes fueron el de 1 a 15 años y el de 60 o más años, con iguales frecuencias.

Figura 4: Cepas confirmadas de *Streptococcus pyogenes* invasor, por año y grupo de edad, Chile 2009 - 2012*



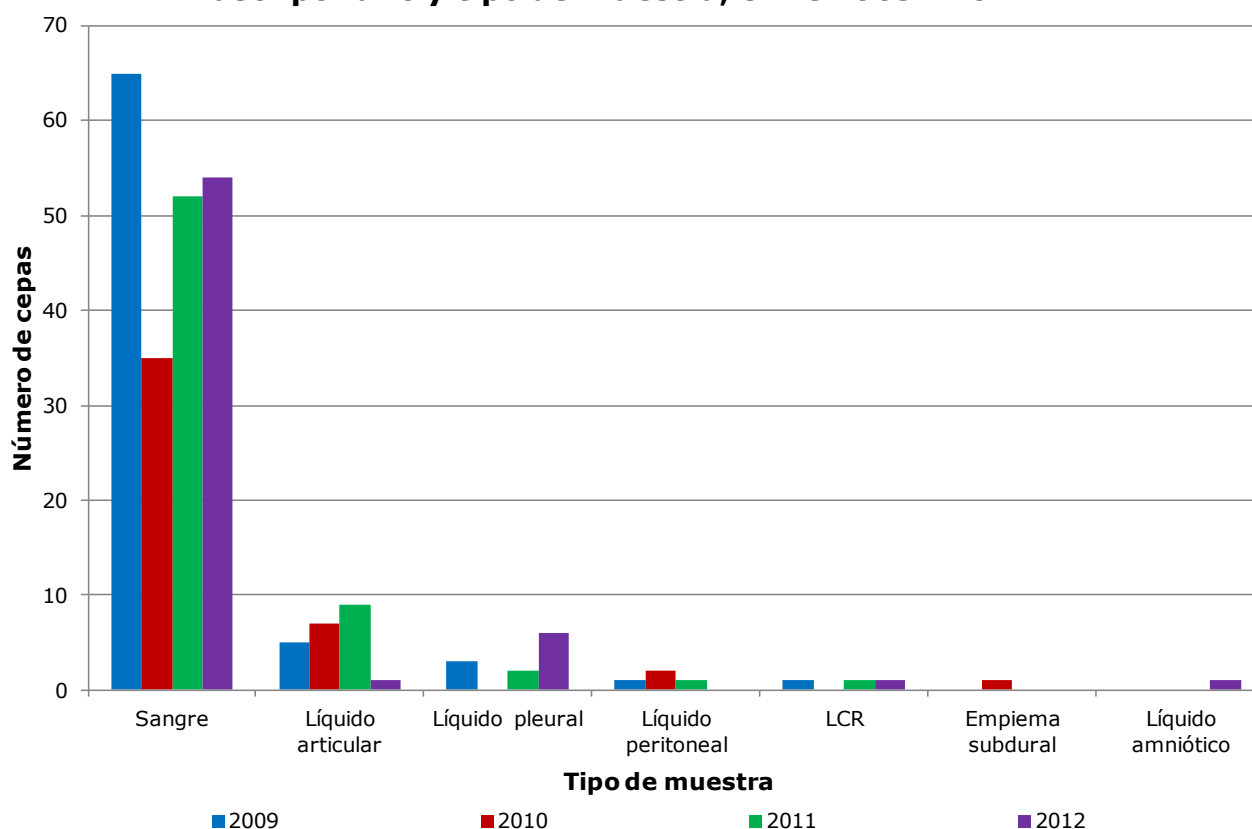
Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas gram positivas. Departamento de Laboratorio Biomédico. Instituto de Salud Pública de Chile.

*Información hasta julio 2012.

Cepas de *S. pyogenes* invasor por año y tipo de muestra.

En el periodo 2009 - 2012, el 83,1% de las cepas confirmadas de *Streptococcus pyogenes* invasor provenían de muestras de sangre. Le siguen en frecuencia las muestras de líquido articular y líquido pleural. Las frecuencias de los tipos de muestra restantes no superaron las 4 cepas (figura 5).

Figura 5: Cepas confirmadas de *Streptococcus pyogenes* invasor por año y tipo de muestra, Chile 2009 - 2012*



Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas gram positivas. Departamento de Laboratorio Biomédico. Instituto de Salud Pública de Chile.

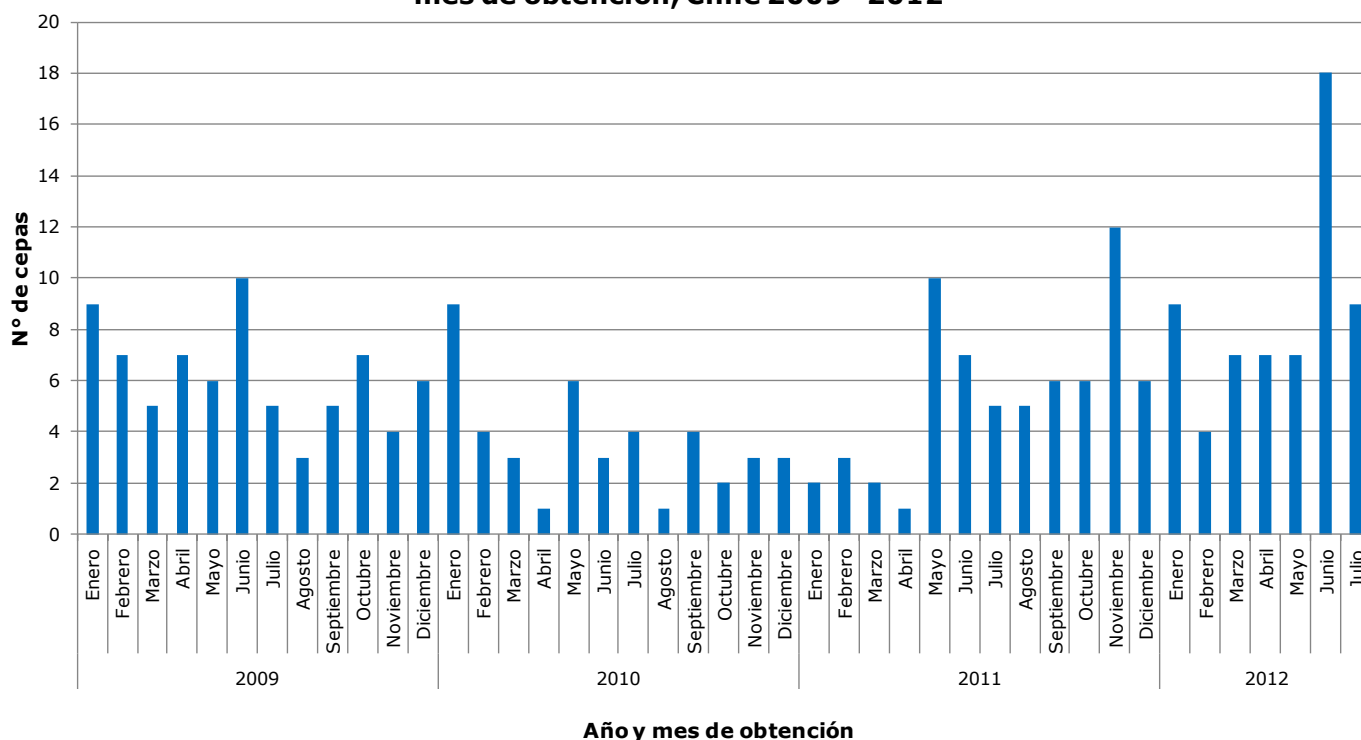
* Información hasta julio 2012.

Cepas de *S. pyogenes* invasor por año y mes de obtención.

En el periodo de estudio, se confirmaron entre 1 y 18 cepas de *S. pyogenes* al mes (figura 6). En el transcurso del año 2012 se ha confirmado una mayor cantidad de cepas mensuales que los años anteriores, alcanzando 18 cepas en el mes de junio.

No se observó un comportamiento estacional en el número de cepas confirmadas mensualmente.

Figura 6: Cepas confirmadas de *Streptococcus pyogenes* invasor, por año y mes de obtención, Chile 2009 - 2012*



Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas gram positivas. Departamento de Laboratorio Biomédico. Instituto de Salud Pública de Chile.
*Información hasta julio 2012

Susceptibilidad antimicrobiana.

En todo el periodo de estudio, se analizó la susceptibilidad de las cepas confirmadas de *S. pyogenes* a penicilina, clindamicina y eritromicina, y en marzo de 2012 se comenzó a analizar además la susceptibilidad a tetraciclina, como vigilancia de laboratorio. Se obtuvo un 100% de sensibilidad a penicilina en el periodo, los porcentajes anuales de sensibilidad a clindamicina variaron entre un 98% y 100%, mientras que para eritromicina la variación fue entre un 93% y 99% (tabla 2).

Tabla 2: Porcentaje de sensibilidad a antimicrobianos de las cepas confirmadas de *S. pyogenes* invasor, Chile 2009 - 2012*

Antimicrobiano	2009		2010		2011		2012*		Total 2009 - 2012*	
	n	% S	n	% S	n	% S	n	% S	n	% S
Penicilina	75	100%	45	100%	65	100%	63	100%	248	100%
Clindamicina		99%		98%		98%		100%		99%
Eritromicina		99%		93%		98%		98%		98%
Tetraciclina		-		-		-		-		48

Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas gram positivas, Departamento de Laboratorio Biomédico, ISP.

*Información hasta julio 2012.

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. El fenotipo de resistencia M fue detectado en una cepa de cada grupo de edad, y los fenotipos MLS_C y MLS_I fueron detectados en el grupo de 16 años o más. Se excluyeron del análisis 26 cepas sin información acerca de la edad (tabla 3).

Tabla 3: Porcentaje de sensibilidad a antimicrobianos de las cepas confirmadas de *S. pyogenes* invasor por grupos de edad, Chile 2009 - 2012*

Antimicrobiano	< 1 año		1 - 15 años		≥ 16 años	
	n	% S	n	% S	n	% S
Penicilina	16	16/16	88	100%	118	100%
Clindamicina		16/16		100%		97%
Eritromicina		15/16		99%		97%
Tetraciclina		2		2/2		19

Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas gram positivas, Departamento de Laboratorio Biomédico, ISP.

*Información hasta julio 2012.

De las 248 cepas confirmadas de *S. pyogenes* invasor, 7 resultaron resistentes a eritromicina y/o clindamicina. La tabla 4 muestra los distintos fenotipos identificados en estas cepas.

Tabla 4: Cepas de *S. pyogenes* invasor resistentes a eritromicina o clindamicina por fenotipo, Chile 2009 - 2012*.

Fenotipo	Cepas
M	3
L	0
MLS _C	3
MLS _I	1
Total	7

Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas gram positivas, Departamento de Laboratorio Biomédico, ISP.

*Información hasta julio 2012.

Cepas confirmadas de *S. pyogenes* según serotipo M

El año 2010 se comenzó a estudiar el serotipo M de todas las cepas de *Streptococcus pyogenes* confirmadas en el ISP.

Los serotipos más frecuentes en el período 2010 - 2012 fueron M1, M12 y M89, cada uno de ellos con más de 10 cepas de frecuencia. Los serotipos encontrados en menos de 3 cepas se categorizaron como "otros".

Tabla 5: Cepas confirmadas de *S. pyogenes* por serotipo M Chile 2009 - 2012*

Serotipo	Nº de cepas
M1	32
M12	30
M89	15
M22	10
M6	10
M4	9
M87	8
M81	7
M80	6
M73	6
M3	5
M82	5
M27G	5
M58	4
M28	3
ST0721	3
Otros	15
Total	173

Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas gram positivas, Departamento de Laboratorio Biomédico, ISP.

*Información hasta julio 2012.

Cepas confirmadas de *S. pyogenes* según serotipo T

El año 2012 se comenzó a estudiar el serotipo T en todas las cepas de *Streptococcus pyogenes* confirmadas en el ISP.

Los serotipos más frecuentes en este periodo fueron T1, T12 y TB3264. El resto de los serotipos no superaron las 4 cepas de frecuencia.

**Tabla 6: Cepas confirmadas de *S. pyogenes* por serotipo T
Chile 2012***

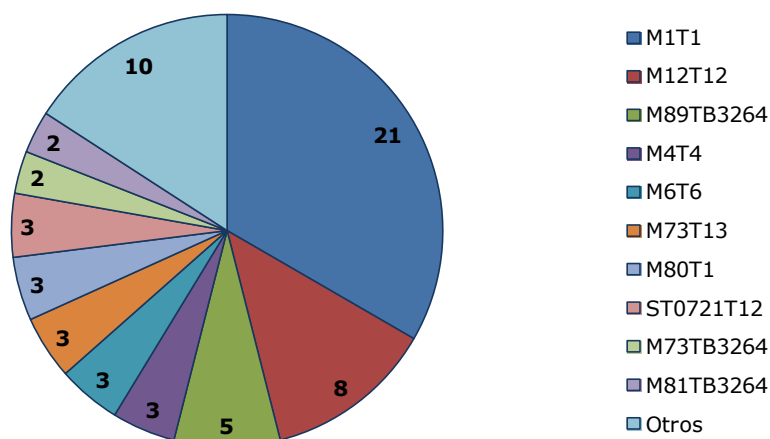
Serotipo	N° de cepas	Porcentaje
T1	25	39.7%
T12	11	17.5%
TB3264	10	15.9%
T13	4	6.3%
T6	4	6.3%
T4	3	4.8%
T5/27/44	3	4.8%
T2	1	1.6%
T22	1	1.6%
T28	1	1.6%
Total	63	100.0%

Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas gram positivas, Departamento de Laboratorio Biomédico, ISP.

*Información hasta julio 2012.

La figura 7 muestra que al estudiar las combinaciones de los serotipos M y T de las cepas de *S. pyogenes* invasor confirmadas entre enero y julio 2012, se observa que el serotipo más frecuente fue M1T1, con un 33,3% del total de cepas. Le siguen en frecuencia los serotipos M12T12 y M89TB3264 con un 12,7% y un 7,9% respectivamente. Los serotipos encontrados en solo una cepa se clasificaron como "otros".

Figura 7: Frecuencia de serotipos M y T de *Streptococcus pyogenes* invasor, Chile enero - julio 2012



Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de Cocáceas gram positivas. Departamento de Laboratorio Biomédico. Instituto de Salud Pública de Chile.

4. Conclusión

En el periodo entre enero 2009 y julio 2012 se confirmaron 248 cepas de *S. pyogenes* invasora. Al comparar el total de cepas confirmadas en el periodo enero – julio de 2012 con el mismo periodo de años anteriores, se observa un aumento de un 24,5% en relación al año 2009, y de 103,3% en relación al año 2011, sin embargo, no se ha reportado al Laboratorio de Referencia la ocurrencia de brotes. De acuerdo al número de cepas de *S. pyogenes* confirmadas mensualmente por el ISP, no se observó un comportamiento estacional.

El 52,4% de las cepas de *S. pyogenes* invasoras provenían de la Región Metropolitana, seguida de las regiones de Valparaíso y Biobío, y el grupo etario más frecuente en el que se confirmó *S. pyogenes* fue el de 1 a 15 años.

Del total de cepas invasoras confirmadas durante el periodo, el 83,1% provenía de muestras de sangre, seguido de líquido pleural y articular.

La totalidad de cepas invasoras confirmadas resultaron sensibles a penicilina, y los porcentajes globales de sensibilidad a clindamicina, eritromicina y tetraciclina oscilaron entre un 98% y 99%. Por lo tanto, podemos concluir que nuestras cepas chilenas tienen una alta sensibilidad a los antibióticos, aunque se reportan algunos fenotipos de resistencia pero en una muy baja frecuencia.

Los serotipos M más frecuentes en las cepas invasoras confirmadas fueron M1, M12 y M89, y los serotipos T más frecuentes fueron T1, T12 y TB3264. Si bien el principal antígeno de virulencia de *S. pyogenes* es la proteína M, la proteína T es un marcador epidemiológico utilizado tradicionalmente en la caracterización. Las combinaciones más frecuentes de serotipos M y T en las cepas invasoras confirmadas el año 2012, fueron M1T1, M12T12 y M89TB3264, con porcentajes de 33,3%, 12,7% y de 7,9% respectivamente. Estos hallazgos reflejan que nuestras cepas invasoras circulantes concuerdan con lo descrito en la literatura en que el serotipo M1T1 es el predominante en enfermedades invasoras. Dado que *S. pyogenes* genera enfermedad invasora severa de alta

letalidad la vigilancia permanente de éste permitirá tomar las medidas preventivas en forma oportuna.

5. Bibliografía

1. Versalovic J, Carroll K, Funke G. Streptococcus. Manual of Clinical Microbiology 10th edition. 2011; 20:331-349.
2. Bosch T, Rieraa M, Galmés M, Ramírez A, Albertí S. Infecciones invasoras por estreptococos del grupo A: características clínicas y análisis microbiológico de 31 casos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2001; 19:371-5.
3. Dmitriev AV, Chaussee MS. The *Streptococcus pyogenes* proteome: maps, virulence factors and vaccine candidates. Future Microbiol. 2010 Oct;5(10):1539-51.
4. Ulloa F. MT, Silva A. V, Piñones A. E, Porte T. L, Fica C. A, Pinto C. ME. Caracterización molecular de cepas de *Streptococcus pyogenes* aisladas de cuadros invasores basada en el polimorfismo del regulón vir. Revista chilena de infectología. 2001 Jan; 18(3):193-202.
5. Johnson D, Kalplan E, VanGheem A, Facklam R, Beall B. Characterization of group A streptococci (*Streptococcus pyogenes*): correlation of M-protein and *emm*-gene type with T-protein agglutination pattern and serum opacity factor. Journal of Medical Microbiology. 2006; 55: 157-164.
6. Facklam R, Beall B, Efstratiou A, Fischetti V. Emm typing and validation of provisional M types for group A Streptococci. Emerging Infectious Diseases. 1999 Abril; 5(2): 247-253.
7. Traverso F, Sparo M, Rubio V, Sáez Nieto JA. Caracterización molecular de *Streptococcus pyogenes* causantes de enfermedad invasora y síndrome de shock tóxico estreptocócico. Revista argentina de microbiología. 2010; 42(1):41-5.

8. Vinagre del P C, Cifuentes D M, Valdivieso R F, Ojeda S A, Prado J V. Emergencia de resistencia a macrólidos en *Streptococcus pyogenes*. Revista médica de Chile. 1999 Dec; 127(12): 1447-52.
9. Torres C, Cercenado E. Lectura interpretada del antibiograma de cocos gram positivos. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2010; 28(8): 541-553.
10. Beall B, Facklam R, Thompson T. Sequencing emm-specific PCR products for routine and accurate typing of group A Streptococci. Journal of Clinical Microbiology. 1996 Abril; 34(4): 953-958.

Agradecimientos

Agradecemos especialmente a todas las personas que han participado en la recolección, envío, recepción, procesamiento y registro de las muestras, así como aquellas que han participado en la revisión de este documento.