

Artículo original

Frecuencia de antiestreptolisina O y antidesoxirribonucleasa B como indicador de infección estreptocócica en estudiantes de una unidad educativa del estado Aragua

Clara Nancy Gutiérrez^{a,*}, María Chacón^a, María del Carmen Martínez^b, Bethelgeuse Sibrian^a, Yaraceli Márquez^a, Edmundo Herrera^a, Liliana Torres^c y Luis Pérez-Ybarra^d

^aDepartamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo-Sede Aragua (UC). ^bDepartamento de Parasitología, UC. ^cLaboratorio Clínico César Sánchez Font, Valencia, estado Carabobo. ^dDepartamento Ciencias Básicas, UC.

Recibido 8 de noviembre de 2009; aceptado 10 de junio de 2010

Resumen: En este estudio se determinó la frecuencia de anticuerpos antiestreptolisina O (ASO) por neutralización y nefelometría y anticuerpos antidesoxirribonucleasa B (antiDNasa B) mediante nefelometría en 177 estudiantes seleccionados de manera aleatoria de una unidad educativa del municipio Francisco Linares Alcántara, estado Aragua. El porcentaje de títulos elevados para ASO por neutralización obtenido en los escolares fue 8,5% y por nefelometría 39,6%, estableciéndose que el método nefelométrico detectó mayor porcentaje de individuos con títulos altos. Con respecto a la antiDNasa B, 28,3% de los estudiantes presentaron títulos por encima del valor normal. Los escolares con edades entre 8 a 10 años exhibieron el mayor porcentaje de títulos elevados. La alta prevalencia de ASO observada revela que la infección por *S. pyogenes* es importante. Las complicaciones y secuelas no se estudiaron, por lo que las medidas de prevención y control deben dirigirse a prevenir las posibles secuelas. Tomando en cuenta que la mayoría de los estudiantes estaban asintomáticos se hace necesario realizar estudios en los cuales se aísle *S. pyogenes*, como también estudios en los cuales se establezcan los valores referenciales para las diferentes pruebas realizadas en este estudio.

Palabras clave: infecciones estreptocócicas, estreptococo beta hemolítico del grupo A, ASO, antiDNasa B

Frequency of antistreptolysin O and antidesoxirribonuclease B as indicators of streptococcal infection in students from a teaching unit in Aragua State

Abstract: In this study, the frequency of antistreptolysin O (ASO) antibodies was determined through neutralization and nephelometry and antidesoxirribonuclease B (antiDNase B) antibodies through nephelometry in 177 students from a teaching unit located in the Francisco Linares Alcántara Municipality of Aragua State. The percentage of elevated ASO titers by neutralization obtained in the school children was 8.5% and by nephelometry 39.6%, showing that the nephelometry method detects a higher percentage of individuals with high titers. Regarding antiDNase B, 28.3% of the students showed titers over the normal value. School children with ages between 8 and 10 years showed the greatest percentage of elevated titers. The high ASO prevalence observed reveals that infection by *S. pyogenes* is important. The complications and sequels were not studied, due to which prevention and control measures should be addressed to prevent possible sequels. Considering that most of the students were asymptomatic, it is necessary to carry out studies to isolate *S. pyogene*, well as studies to establish the referential values for the various tests done in this study.

Keywords: streptococcal infections, group A beta hemolytic streptococcus, ASO, antiDNase B

* Correspondencia:
E-mail: claranancy88@hotmail.com

Introducción

La detección de la antiestreptolisina O (ASO) y la antidesoxirribonucleasa B (antiDNasa B) son exámenes que se utilizan para el diagnóstico serológico de infecciones por *Streptococcus pyogenes* (estreptococo beta hemolítico del grupo A) [1]. Esta bacteria es un patógeno humano

importante, capaz de producir enfermedades graves y cuadros clínicos que dejan secuelas permanentes, especialmente en la población infantil [2].

Los estreptococos beta hemolíticos del grupo A producen varios antígenos extracelulares que estimulan la producción de anticuerpos en el paciente infectado. Muchos de estos anticuerpos son detectables mediante pruebas serológicas

apropiadas, la mayoría de las cuales utilizan antígenos extracelulares solubles, siendo el más conocido la estreptolisina O; los demás incluyen a: la desoxirribonucleasa B, hialuronidasa y estreptocinas; de este grupo de enzimas la más utilizada es la desoxirribonucleasa B [3].

Streptococcus pyogenes es responsable de infecciones supurativas y secuelas postestreptocócicas no supurativas [4], siendo la faringoamigdalitis aguda la principal infección de tipo supurativa [5]; también puede producir otros procesos infecciosos supurativos de diversa localización como otitis media, sinusitis, infección en la piel, celulitis, impétigo, fiebre escarlatina, septicemia, meningitis, fascitis necrotizante y shock tóxico [4]. Entre las secuelas postestreptocócicas no supurativas cabe destacar la fiebre reumática aguda, la glomerulonefritis aguda, la artritis reactiva, desorden neuropsiquiátrico autoinmune pediátrico, entre otras [4, 6, 7]. De estas, la fiebre reumática aguda es la secuela postestreptocócica no supurativa más importante; es una enfermedad prevalente con una tasa importante de morbilidad y mortalidad en países en desarrollo [4, 8].

La faringoamigdalitis aguda ocurre principalmente en niños y adolescentes entre 5 y 15 años de edad, pero todos los grupos etarios son susceptibles [5,9]. Esta enfermedad habitualmente es de curso benigno, sin embargo, es importante diagnosticarla a tiempo e instaurar tratamiento con antibióticos para reducir la aparición de complicaciones locales o sistémicas [5].

En pacientes con faringitis por estreptococo del grupo A, más del 80% tienen un título elevado de ASO. Los títulos aumentan 7 a 10 días después de la infección inicial, alcanzan un máximo de respuesta entre la tercera y sexta semana y empiezan a declinar después de 6 a 8 meses en la mayor parte de las infecciones no complicadas [8]. Los anticuerpos antiDNasa B aumentan entre la primera y segunda semana del episodio de faringitis. Los valores máximos aparecen de 6 a 8 semanas (más tardío que el pico de ASO). Los títulos de antiDNasa B persisten elevados 2 a 3 meses más que los de ASO, lo cual los convierte en una prueba adecuada para establecer la infección previa por estreptococo del grupo A [8]. Sin embargo, hay estudios que revelan que con una combinación de estas dos pruebas se logra una máxima sensibilidad y especificidad en el diagnóstico serológico de las infecciones estreptocócicas [10].

Otro método muy utilizado para el diagnóstico de estreptococo beta hemolítico del grupo A es el cultivo faríngeo, útil en la etapa aguda de la enfermedad. Sin embargo, para el establecimiento de infección estreptocócica reciente la mejor prueba es la demostración de títulos altos de anticuerpos para ASO [11]. La ausencia de títulos elevados de ASO después de una infección reciente o secuela estreptocócica, hace necesaria la realización de otras pruebas serológicas como la antiDNasa B, la cual tiene una vida media más larga que ASO y puede ser una valiosa herramienta en el diagnóstico de las infecciones recientes; tal es el caso de la glomerulonefritis postestreptocócica debida infecciones de piel o impétigo, donde la antiDNasa B es elevada pero los niveles de ASO están normales [1].

En Venezuela se han publicado pocos estudios en los que se determine tanto el título de ASO [3] como la antiDNasa B [12]. En el municipio Francisco Linares Alcántara, estado Aragua, se ha reportado un importante número de casos de faringitis aguda (Programa de Infecciones Respiratorias Agudas), pero no establecen si el origen de la misma es viral o bacteriano; tampoco existen datos estadísticos que demuestren cual es la situación actual de los niveles de ASO y antiDNasa B.

El propósito de este estudio fue determinar la frecuencia de anticuerpos antiestreptolisina O (ASO) por neutralización y nefelometría y anticuerpos antidesoxirribonucleasa B (antiDNasa B) mediante nefelometría, como indicadores de una infección estreptocócica.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio transversal de campo, en el cual se determinó la prevalencia de anticuerpos ASO y antiDNasa B en una población constituida por 469 niños pertenecientes al turno de la mañana de la escuela Nuestra Señora de la Coromoto, ubicada en el municipio Francisco Linares Alcántara, estado Aragua. La muestra fue calculada para detectar una prevalencia de al menos 30 % con un 95 % de confianza, para lo cual se requirió un tamaño mínimo de muestra de 177 estudiantes con edades comprendidas entre los 5 y 13 años por muestreo probabilístico estratificado aleatorio simple, utilizando el programa STATXACT para Windows. La muestra fue dividida según grupos de edad, distribuyéndose de la siguiente manera: Grupo I: 5-7 años de edad, Grupo II: 8-10 años de edad y Grupo III: 11-13 años de edad. Este estudio fue realizado entre los meses de marzo y junio de 2008.

A todos los escolares de este estudio se les solicitó el consentimiento informado por parte del representante con la finalidad de autorizar su participación en el desarrollo de la investigación.

Muestra de sangre: La muestra de sangre fue tomada mediante punción venosa en un tubo sin anticoagulante. Luego las muestras fueron centrifugadas a 2000 r.p.m. durante 10 minutos. El suero se separó en alícuotas, siendo almacenadas a -80°C hasta el momento de su procesamiento.

Método de neutralización para la determinación del título de ASO: Las muestras se analizaron usando la técnica de Rantz y Randall, de acuerdo a las especificaciones del fabricante (Wiener lab). Valores Referenciales: hasta 166 unidades Todd/mL.

Método nefelométrico para la determinación de ASO: Las muestras fueron analizadas en un Nefelómetro Siemens BN II (Dade Behring) con reactivos de la misma casa comercial. Se siguieron las instrucciones indicadas por el fabricante. Valores Referenciales: hasta 200 UI/mL.

Método nefelométrico para la determinación de antiDNasa B: Las muestras se analizaron automatizadamente en un Nefelómetro Siemens BN II (Dade Behring) con reactivos de la misma casa comercial. Se siguieron las instrucciones indicadas por el fabricante. Valores Referenciales: hasta 200 U/mL.

Análisis de datos: Se calculó la frecuencia de anticuerpos ASO y antiDNasa B según edad y sexo utilizando distribución de frecuencia, porcentaje y tabulación cruzada. Se compararon los estudiantes con títulos elevados con los de títulos normales y su relación con las variables estudiadas, utilizando la razón de probabilidades de Odds (Odds-Ratio, OR) y la prueba de chi cuadrado (X^2). De obtener relación entre las variables estudiadas, se procedió a utilizar el Análisis de Residuales de Pearson. Se utilizó el programa STATXACT 8.0.

Resultados

Cuando se analizaron los resultados obtenidos mediante la prueba de ASO por neutralización se observó una frecuencia de 91% (n=161 escolares) con títulos dentro de los valores normales (0-166 unidades Todd/mL), mientras que 9% (n=16 escolares) presentaron títulos elevados (167-625 unidades Todd/mL). Por otro lado, al realizar la determinación de ASO por el método de nefelometría, se encontraron 107 escolares (61%) con títulos normales (0-200 UI/mL) y 70 escolares (39%) con títulos elevados (201-mayor de 800 UI/mL), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$) en relación a los resultados obtenidos por el método de neutralización.

Con relación a la determinación de antiDNasa B por nefelometría, se encontró que 127 (71,8%) escolares presentaron títulos normales (0-200 U/mL) y 50 (28,2%) presentaron títulos por encima del valor normal (201-mayor de 800 U/mL). Al evaluar el total de muestras séricas y realizar la cuantificación de los títulos de ASO por neutralización se obtuvo un mínimo de 0 unidades Todd/mL (cero) y un máximo de 625 unidades Todd/mL. Mediante nefelometría, el valor mínimo de unidades fue de 51,6 UI/mL y el máximo de 1.230 UI/mL, mientras que para la prueba de antiDNasa B por el método de nefelometría el título mínimo fue de 74,5 UI/mL y el máximo de 1.030 U/mL.

De los 16 individuos con títulos elevados para ASO por neutralización, 68,7% (n=11) pertenecían al sexo femenino comparado con 48,5% del mismo sexo pero con valores normales. La razón de productos cruzados (OR) estimada fue 0,43; es decir, la posibilidad de encontrar un individuo del sexo femenino con títulos normales es menor que en el grupo masculino (Tabla 1). Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p=0,12$).

En el caso de ASO por nefelometría, se aprecia de igual forma que, de los 70 individuos con títulos elevados, el sexo femenino mostró un mayor porcentaje. Con relación a la prueba antiDNasa B por nefelometría, se pudo apreciar que

50 escolares presentaron títulos elevados, de los cuales 44% (n=22) pertenecían al sexo femenino y 56% (n=28) al sexo masculino. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p=0,15$).

Cuando se evaluaron los diferentes grupos de edad observamos que el grupo etario II (8 a 10 años) presentó un mayor porcentaje de títulos elevados para ASO tanto por neutralización como por nefelometría (63% y 58,6%, respectivamente). Dicho grupo etario obtuvo más posibilidad de tener títulos elevados en ASO por nefelometría, siendo esta asociación estadísticamente significativa ($p=0,005$) (Tabla 2).

Tabla 1. Asociación entre anticuerpos ASO y antiDNasa B con el sexo en escolares de la Unidad Educativa Nuestra Señora de la Coromoto.

	Sexo	Normal n (%)	Elevado n (%)	OR	IC al 95%	Valor de p
ASO NEUT.*	F#	78 (48,5)	11 (68,7)	1,00	-	-
	M	83 (51,5)	5 (31,3)	0,43	0,12-1,41	0,12
ASO NEFEL.*	F#	51 (47,7)	38 (54,3)	1,00	-	-
	M	56 (52,3)	32 (45,7)	0,77	0,40-1,47	0,39
anti-DNasa B	F#	67 (52,7)	22 (44)	1,00	-	-
	M	60 (47,3)	28 (56)	0,59	0,27-1,29	0,15

*Categoría de referencia

ASO NEUT.*: ASO por Neutralización, ASO NEFEL.*: ASO por Nefelometría.

Tabla 2. Asociación entre anticuerpos ASO y antiDNasa B con la edad en escolares de la Unidad Educativa Nuestra Señora de la Coromoto.

	Edad (años)	Normal n (%)	Elevado n (%)	Valor De p
ASO NEUT.*	5 - 7	57 (35,4)	1 (6,3)	-
	8 - 10	70 (43,5)	10 (63)	0,06
	11 - 13	34 (21,1)	5 (31,3)	-
ASO NEFEL.*	5 - 7	44 (41,1)	14 (20)	-
	8 - 10	39 (36,5)	41 (58,6)	0,005
	11-13	24 (22,4)	15 (21,4)	-
anti-DNasa B	5 - 7	45 (35,4)	13 (26)	-
	8 - 10	56 (44,1)	24 (48)	0,45
	11 - 13	26 (20,5)	13 (26)	-

ASO NEUT.*: ASO por Neutralización, ASO NEFEL.*: ASO por Nefelometría.

De igual forma se apreció este hecho con la prueba de antiDNasa B, donde el grupo etario II presentó la mayor cantidad de títulos elevados; los grupos etarios I y III presentaron el mismo porcentaje.

Debido a la significancia obtenida entre las variables asociadas, se procedió a estudiar el tipo de asociación existente aplicando el Análisis de Residuales de Pearson.

Allí se pudo observar que el porcentaje de títulos elevados para las edades comprendidas entre 8 a 10 años (Grupo etario II) en ASO por nefelometría corresponde al 60%, siendo mayor si se compara con el porcentaje de los títulos normales. En el grupo etario III esta relación (entre títulos normales y elevados con respecto a la edad) se encuentra en igual proporción y para el grupo etario I se encuentra a favor de los títulos normales (Figura 1).

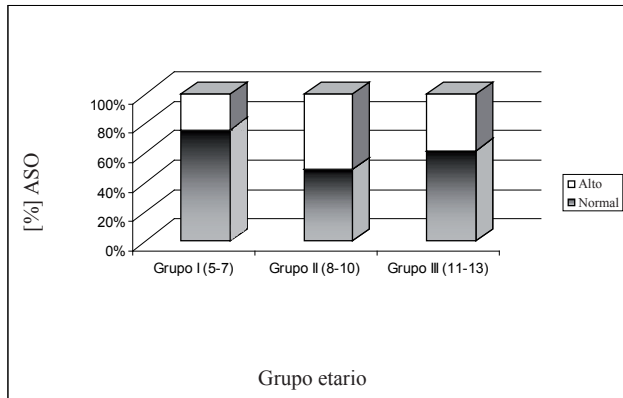


Figura 1. Asociación entre anticuerpos ASO por nefelometría con la edad en escolares de la Unidad Educativa Nuestra Señora de la Coromoto.

Discusión

En el presente estudio 9% (n=16) de los escolares presentaron títulos por encima de 166 unidades Todd/mL, de los cuales 8,5% (n=15) se encontraban entre 167-333 y sólo 0,6% (n=1) con 625 Unidades Todd/mL. Estos valores difieren de los obtenidos en otro estudio [13] realizado en una población pediátrica y rural de Antioquia en Colombia, en el cual participaron 506 individuos de 6 a 14 años de edad, donde 154 (30,4%) presentaron títulos de ASO mayor o igual a 320 y 71 (14%) tuvieron títulos mayores o igual a 640.

Ahora bien, al evaluar los títulos de ASO por nefelometría 39,6% (n=70) presentaron valores superiores a 200 UI/mL, observándose un incremento en el número de estudiantes con títulos elevados, en comparación a la prueba de ASO realizada por neutralización. Comparando este resultado con los obtenidos en otra investigación [14], se observaron similitudes, donde 37% de los estudiantes presentaron títulos mayores a 200 UI/mL.

Estas diferencias de títulos de ASO elevados obtenidas entre ambos métodos fueron establecidas en un estudio [15] donde el ensayo nefelométrico resultó más sensible en la detección de anticuerpos ASO con respecto a la prueba de neutralización.

Con respecto a la antiDNasa B, 28,3% (n=50) de los estudiantes presentaron títulos por encima del valor normal, donde 19,2% se encontraron entre 201 a 400 U/mL y 9% con valores superiores a 400 U/mL. Estos resultados difieren de los obtenidos por Kim y Lee [1], donde porcentajes similares para las concentraciones séricas de antiDNasa B fueron obtenidos para títulos superiores a 400 y 500 UI/mL. Estos

investigadores reportaron que los niños con estreptococos beta hemolíticos no pertenecientes al grupo A pueden exhibir títulos de ASO más altos que los que presentaron los niños con *S. pyogenes*, mientras que los niveles de antiDNasa B fueron específicamente elevados en los niños con *S. pyogenes*, por lo que concluyeron que la prueba de antiDNasa B es un método eficaz para el diagnóstico exacto de infecciones por *S. pyogenes*.

Por otro lado, las diferencias notables entre la cantidad de títulos elevados para ASO y antiDNasa B, obtenidos por cada método, deben ser consideradas debido a que la cinética que presentan los anticuerpos frente a estos productos varía en el tiempo. Shet y Kaplan [16] establecen que la antiDNasa B es la que genera mayor respuesta inmune en los humanos; su concentración se eleva a la segunda semana después de la infección, alcanzando valores picos entre seis y ocho semanas, y tienden a mantenerse elevados por periodos mayores que ASO. Es por, ello que Blyth y Robertson [10] establecen que una combinación de ASO y antiDNasa B es necesaria para poder lograr así la máxima sensibilidad y especificidad en el diagnóstico serológico de infecciones estreptocócicas.

Al relacionar los títulos elevados con las diferentes pruebas se pudo observar que el grupo etario II (8 a 10 años) presenta el mayor porcentaje de títulos elevados con respecto a los demás. Esta condición resulta semejante a la obtenida por otra investigación [17] en la que evaluaron los límites superiores normales (LSN) para ASO y antiDNasa B de 66 sueros de niños sin historia reciente de infección por estreptococos. Los niños fueron divididos en tres grupos de edad para el análisis: 4-5 años (n=20), 6-9 años (n=19) y 10-14 años (n=25). Estos investigadores observaron que el LSN para los títulos de ASO en cada grupo de edad fueron de 120 UI/mL, 480 UI/mL y 320 UI/mL; para antiDNasa B, los títulos fueron 100 UI/mL, 400 UI/mL y 380 UI/mL, respectivamente, lo que evidencia un incremento de los valores en la población de 6 a 9 años de edad.

En este trabajo podemos concluir que el método nefelométrico para la determinación de anticuerpos ASO detecta más individuos con títulos elevados que con el método de neutralización y los niveles de ASO y antiDNasa B varían con la edad, encontrándose en la población de 8 a 10 años el mayor número de casos con títulos elevados de estos anticuerpos. Por otro lado, tomando en cuenta que la mayoría de los estudiantes no presentaron antecedentes de infección reciente, se hace necesario realizar estudios en los cuales se aísle *S. pyogenes* como también estudios donde se establezcan los valores referenciales para las diferentes pruebas realizadas en este estudio. Las complicaciones y secuelas no se estudiaron, por lo que las medidas de prevención y control deben dirigirse a prevenir las posibles secuelas.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el proyecto LOCTI UC N°: 1-70 y CDCH-VAL-214-08.

Referencias

1. Kim S, Lee NY. Asymptomatic infection by *Streptococcus pyogenes* in schoolchildren and diagnostic usefulness of antideoxyribonuclease B. J Korean Med Sci. 2005; 20:938-40.
2. Arrayán PA, Arrayán TF, Vargas N, 1998. Prevalencia de portadores asintomáticos de estreptococo beta-hemolítico del grupo A. SITUA (Revista en línea). En: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/situa/1998_n11/portadores.htm. Acceso 10 de octubre de 2006.
3. Pozo N, Romero T, Ruiz A, Hidalgo R, Quintero S, Vivas C. Métodos de aglutinación con partículas de látex y Rantz-Randall para el diagnóstico de las infecciones estreptocócicas. Kasmera. 1999; 27:1-10.
4. Hahn RG, Knox LM, Forman TA. Evaluation of poststreptococcal illness. Am Fam Physician. 2000; 71:1949-54.
5. Cunningham MW. Pathogenesis of group A streptococcal infections. Clin Microbiol Rev. 2000; 13:470-511.
6. Carceller-Blanchard A. Fiebre reumática aguda. Ann Pediatr (Barc). 2007; 67:1-4
7. Cengel-Kültür SE, Cöp E, Kara AB, Cengiz AB, Uludög AK, Unal F. The relationship between group A beta hemolytic streptococcal infection and psychiatric symptoms: a pilot study. Turk J Pediatr. 2009; 51:317-24.
8. Pérez C, Borda A, Zuñiga A, Restrepo L. Interpretación clínica de anticuerpos antiestreptococo en fiebre reumática. Rev Panam Infectol. 2008; 10:36-42.
9. Rubinstein G, Bavdaz B, De Bunder S, Blázquez N. Incidencia de faringitis por *Streptococcus pyogenes* en Bariloche, Argentina. Rev Argent Microbiol. 2005; 37:84-6.
10. Blyth CC, Robertson PW. Anti-streptococcal antibodies in the diagnosis of acute and post-streptococcal disease: streptokinase versus streptolysin O and deoxyribonuclease B. Pathology. 2006; 38:152-6.
11. Walkert T. Microbiología. México: Editorial Mc Graw-Hill Interamericana; 2000.
12. Parra G, Rodríguez-Iturbe B, Batsford S, Vogt A, Mezzano S, Olavarría F, Exeni R, Laso M, Orta N. Antibody to streptococcal zymogen in the serum of patients with acute glomerulonephritis: a multicentric study. Kidney Int. 1998; 54:509-17.
13. Cardona N, Lotero M, Behrend M, Kroeger A, Serás P. Detección de títulos de antiestreptolisina O (AELO) en una población pediátrica y rural de Antioquia. Infectio. 2002; 6:43-6.
14. Ozturk CE, Yavuz T, Kaya D, Yucel M. The rate of asymptomatic throat carriage of Group A Streptococcus in schoolchildren and associated ASO titers in Duzce, Turkey. Jpn J Infect Dis. 2004; 57:271-2.
15. Pacifico L, Mancuso G, Properzi E, Ravagnan G, Pasquino AM, Chiesa C. Comparison of nephelometric and hemolytic techniques for determination of antistreptolysin O antibodies. Am J Clin Pathol. 1995; 103:396-9.
16. Shet A, Kaplan EL. Clinical use and interpretation of group A streptococcal antibody tests: a practical approach for the pediatrician or primary care physician. Pediatr Infect Dis J. 2002; 21:420-6.
17. Danchin MH, Carlin JB, Devenish W, Nolan TM, Carapetis JR. New normal ranges of antistreptolysin O and antideoxyribonuclease B titres for Australian children. J Pediatr Child Health. 2005; 41:583-6.