

N° 49
263



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"ESTREPTOCOCOS BETA HEMOLITICOS DE
IMPORTANCIA PARA EL HUMANO"

TRABAJO ESCRITO

Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

presenta

JORGE GAMEZ GARCIA



México, D. F.

1992

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

Introducción	1
Objetivos	2
Capítulo I. Generalidades sobre Estreptococos	3
Características microscópicas	4
Propiedades de cultivo	5
Clasificación	6
Productos extracelulares y enzimas	11
Importancia Clínica	14
Capítulo II. Estreptococo grupo A	18
Diagnóstico de laboratorio	20
Capítulo III. Estreptococo grupo B	30
Diagnóstico de laboratorio	37
Capítulo IV. Estreptococos grupos C y G	43
Diagnóstico de laboratorio	47
Conclusiones	54
Bibliografía	58

INTRODUCCION

Los estreptococos son los microorganismos que han causado probablemente más enfermedades y morbilidad en la historia de la humanidad que cualquier otra bacteria, exceptuando posiblemente al bacilo tuberculoso.

Desde hace más de 150 años se reconoció la relación entre la presencia de estreptococo beta hemolítico en faringe y enfermedades como escarlatina, glomerulonefritis aguda y falla renal crónica (enfermedad de Bright).

Algunos investigadores señalaron también a los estreptococos como causa de la sepsis puerperal, como agentes etiológicos de la erisipela y, posteriormente, se definió su papel en infecciones postquirúrgicas de heridas.

Por último, se estableció firmemente la relación entre el estreptococo y la fiebre reumática.

También se sabe que algunas especies forman parte de la flora habitual de ciertas regiones del organismo humano, otras han originado el estado portador, mientras que otras más pueden actuar como patógenos primarios produciendo enfermedades transmisibles en humanos y animales.

En principio se pensó que cada tipo de enfermedad estreptocócica era producida por una variedad específica de estreptococo, pero actualmente se sabe que una misma especie puede ser responsable de varias enfermedades.

En este trabajo se mencionarán en forma resumida, las características de cuatro de los grupos de estreptococos beta hemolíticos que más importancia tienen para el humano, por su alta patogenicidad.

Objetivo:

Reconocer que entre los estreptococos beta hemolíticos, no sólo el grupo A de Lancefield participa como agente etiológico.

Mencionar las pruebas que permitan hacer la identificación de cada uno de los grupos A, B, C y G de estreptococos beta hemolíticos.

Reconocer la importancia del grupo serológico para aplicar la terapia adecuada, por la resistencia que han empezado a presentar frente al tratamiento clásico de la infección, la penicilina.

CAPITULO I

GENERALIDADES SOBRE ESTREPTOCOCOS.

El ser humano es uno de los organismos más susceptibles a las infecciones estreptocóccicas, como por ejemplo: faringitis, escarlatina, impétigo y endocarditis.

Además, las infecciones causadas por Streptococcus pyogenes pueden llevar a síndromes postinfecciosos como la fiebre reumática aguda, cardiopatía reumática y glomerulonefritis aguda.

Pasteur describió cadenas de cocos en muestras de pacientes con sepsis puerperal y Koch los identificó en pus de infecciones en heridas (47).

Billroth en 1874 les dio el nombre de estreptococos después de observarlos a partir de lesiones purulentas (3,12,38).

El género Streptococcus sitúa a estos microorganismos dentro de la familia Streptococcaceae. Estas bacterias se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, algunos son miembros de la flora habitual del hombre, en los tractos respiratorio, intestinal y genital de varios animales y, además, en la leche y productos lácteos, agua, polvo y en la vegetación (43).

Estos microorganismos son resistentes al calor, a la desecación y parcialmente a los desinfectantes aunque son fácilmente destruidos por la pasteurización (34).

CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS.

Los estreptococos son microorganismos esféricos a elípticos. Su tamaño va de 0.6 a 1 micra de diámetro dependiendo de la edad del cultivo y de las condiciones de crecimiento. Aunque habitualmente son Gram positivos, pueden convertirse en Gram variables o Gram negativos a medida que el cultivo envejece. Son inmóviles, no esporulados, capsulados en su mayoría y su agrupación característica es la de formar cadenas, especialmente en medios líquidos, así como en muestras biológicas (19,47).

Los estreptococos beta hemolíticos son microorganismos que forman parte del grupo de bacterias piógenas, que microscópicamente se catalogan como cocos Gram positivos, esféricos u ovoides agrupados en cadenas.

La formación de la cadena y su longitud dependen de las condiciones del medio de cultivo. En medios líquidos crecen en cadenas, y en medios sólidos se observan cocos aislados o en pares.

Es posible observar en lesiones purulentas y medios artificiales, la presencia de cadenas largas, en tanto que en lesiones difusas como celulitis, se observan cocos aislados o en pares (24).

El estreptococo beta hemolítico, presenta tres clases de colonias en las placas de agar-sangre: mucoides, lustrosas y mate.

Las cepas mucoides presentan abundante material capsular constituido por ácido hialurónico produciendo colonias aparentemente húmedas.

Las colonias lustrosas son muy pequeñas, no tienen cápsula en su superficie, no generan hialuronidato y por esto no producen gel capsular.

Las colonias mate son opacas, producen mucha proteína M, y no contienen menor cantidad de ácido hialurónico que las mucoides (14).

En general, las colonias muestran hemólisis franca y total, son pequeñas, grisáceas, translúcidas y convexas (47).

Los estreptococos hemolíticos se cultivan rutinariamente en medios de infusión conteniendo sangre o suero.

Para el aislamiento de antígenos específicos y enzimas extracelulares se usa un medio conteniendo solamente los componentes dializables del medio infusión-carne-peptona.

La acumulación del ácido láctico en el medio conteniendo glucosa muestra límites menores de desarrollo por el bajo pH (14).

Su pH óptimo de crecimiento oscila entre 7.4 y 7.6 y su temperatura óptima es de 37°C (14).

PROPIEDADES DE CULTIVO

Estos microorganismos se consideran facultativos en relación a sus requerimientos de oxígeno, porque esta característica es necesaria para un crecimiento óptimo en el

primocultivo, se sugiere usar jarras de anaerobiosis para mantener la presión atmosférica con 5 a 10% de CO₂.

Se consideran fermentativos y el principal producto de su metabolismo es ácido sin presencia de gas en la fermentación de carbohidratos. Debido a esto, su medio óptimo debe estar exento de carbohidratos (azúcares reductores) para que no exista inhibición del microorganismo al acidificarse el medio, puesto que su desarrollo óptimo, como se acaba de mencionar, se lleva a cabo a un pH de 7.4 a 7.6.

Entre las bases para agar-sangre más empleadas que llenan estos requisitos, sobresalen los agares de tripticasa-soya, infusión de neopeptona y proteosa peptona (6,43).

Además, es muy importante que la sangre sea de carnero porque inhibe el crecimiento de Haemophilus haemolyticus, microorganismo cuya morfología y producción de hemólisis total, pueden confundirse con la de los estreptococos hemolíticos. En general, no se emplea la sangre humana a menos que se sepa que está libre de sustancias inhibitoras (47).

CLASIFICACIÓN.

La clasificación de los estreptococos está dada según el tipo de hemólisis en agar-sangre de carnero (Brown) y según su carbohidrato antigénico (Lancefield) y su proteína antigénica M para determinar su tipo serológico (37,46).

A principios del siglo XX, Hugo Schottmuller demostró las

reacciones hemolíticas producidas por los estreptococos en agar-sangre como criterio de clasificación.

En 1919 J.H. Brown, trabajando en el Rockefeller Institute, fue el primero en describir las diferentes reacciones hemolíticas: alfa, beta y gamma de los estreptococos (28).

El estreptococo beta hemolítico produce una gran zona clara de hemólisis completa alrededor de la colonia debido a la destrucción de los glóbulos rojos, realizada por la liberación de 2 tipos de hemolisinas: la estreptolisina O y la estreptolisina S.

La primera es inactivada por el oxígeno atmosférico y es, por lo tanto, solamente demostrable en las capas profundas del agar.

Las colonias de estreptococos alfa hemolíticos están rodeadas por una zona angosta de hemólisis y una coloración verde, debida a la destrucción parcial de los eritrocitos que produce la liberación de pigmentos como la biliverdina, también existe una cantidad reducida de glóbulos rojos ya que no está por completo libre de ellos.

Las cepas que presentan este tipo de hemólisis, con excepción de Streptococcus pneumoniae, son miembros del grupo Viridans.

Los estreptococos tipo gamma, no producen hemólisis en el medio de agar ya que no son hemolíticos (14).

El trabajo de Rebecca Lancefield en 1933 proporcionó los fundamentos para la clasificación de los estreptococos, en

base a las diferencias serológicas de los polisacáridos C de los hidratos de carbono presentes en la pared celular, en base a esto se denominaron los grupos A, B, C, D, E, F, G y H. Desde entonces, los continuos estudios e investigaciones han ampliado a 18 el número de grupos serológicos reconocidos, clasificados de A a H y de K a T. En la mayoría de los laboratorios clínicos sólo se identifican rutinariamente los grupos A, B y D, ya que dichos grupos son responsables de la mayoría de las infecciones humanas (11,28,47).

Grupo	Constitución del Carbohidrato C
A	(ramnosa-N-acetilglucosamina)
B	(galactosa-N-acetilglucosamina-ramnosa)
C	(ramnosa-N-acetil-galactosamina)
G	(galactosa-N-acetil-galactosamina-ramnosa)

La separación de los estreptococos beta hemolíticos en grupos inmunológicamente específicos (A a la O), depende de la presencia de los grupos carbohidrato antigénico C, que son los que dan especificidad, en la mayoría de los casos representada por un componente estructural de la pared celular.

Existe un estudio en el que se demostró que el antígeno estreptocócico de grupo puede ser un polímero formado por un azúcar simple o varios azúcares (43).

Diagrama esquemático de los constituyentes químicos y antigénicos de un estreptococo (14,38,43).

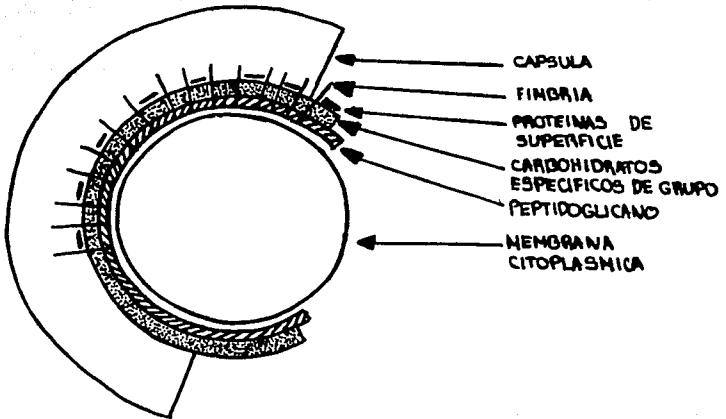


Tabla de clasificación de algunas especies de estreptococos (28)

Grupo de Lancefield	Especies	Hemólisis	Habitat humano habitual
A	<u>S. pyogenes</u>	beta	faringe, piel
B	<u>S. agalactiae</u>	beta	faringe, vagina, deposiciones de recién nacidos (varios sitios)
C	<u>S. equi</u> <u>S. equisimilis</u> <u>S. dysgalactiae</u>	beta	faringe vagina piel
D	Enterococos	gama reactivos	intestino grueso
	<u>S. faecalis</u> <u>S. faecium</u>	(alfa) (beta)	
	No enterococos		
	<u>S. bovis</u> <u>S. equinus</u>		
G	<u>S. canis</u>	beta	faringe vagina piel

PRODUCTOS EXTRACELULARES Y ENZIMAS.

Se ha podido demostrar la producción de alrededor de 20 sustancias extracelulares con características toxigénicas diferentes, la mayor parte de naturaleza proteica y con actividad enzimática. Entre las más importantes están: la hialuronidasa, proteinasa, toxinas eritrogénicas A, B, C, estreptolisinas O y S, desoxirribonucleasas A, B, C, y D, nicotinamida adenín dinucleotidasa, amilasa, esterasa, estreptocinasa A y B y ribonucleasa (14).

EXOTOXINA PIROGENICA (toxina eritrogénica). Si bien las toxinas eritrogénicas son responsables del enrojecimiento que se presenta en la fiebre escarlatina y las erisipelas, la pirogenicidad parece ser la toxicidad primaria y la reactividad dérmica es, por lo menos en parte, secundaria a hipersensibilidad. Hay por lo menos tres tipos diferentes de toxinas eritrogénicas: A, B, y C (47).

ESTREPTOLISINAS. Son dos las hemolisinas responsables de la zona de hemólisis alrededor de las colonias estreptocóccicas, la estreptolisina O y la estreptolisina S.

La primera recibe este nombre porque se inactiva en presencia de oxígeno atmosférico. Es antigénica al dar origen a anticuerpos que neutralizan su acción hemolítica. Usualmente hay anticuerpos antiestreptolisina O en el suero de pacientes en recuperación de algunas enfermedades estreptocóccicas.

La segunda, estreptolisina S, es estable frente al oxígeno,

no es antigénica y está ligada a la célula. La designación S deriva del hecho que no se inactiva en presencia de oxígeno atmosférico, es decir, que es estable, pudiéndose extraer de las células estreptocócicas intactas con suero. Esta extracción depende de la asociación con la albúmina sérica como acarreador macromolecular, que formará un complejo con la hemolisina. El enlace con las células parece ser responsable de la acción leucotóxica del estreptococo del grupo A, que se manifiesta por la muerte de una gran proporción de los leucocitos que los fagocitan.

Algunos otros factores que incrementan la virulencia son: nicotín adenín dinucleotidasa, desoxirribonucleasa, estreptoquinasa y hialuronidasa, que tienen importancia práctica en la confirmación de la infección estreptocócica (14).

ESTREPTOQUINASA. Es una enzima que cataliza la conversión de plasminógeno en plasmina, llevando así a la lisis de la fibrina y a la hidrólisis de proteínas.

HIALURONIDASA. La hialuronidasa estreptocócica hidroliza el ácido hialurónico tanto en tejidos animales como en la cápsula que rodea a los estreptococos.

Ambas, estreptoquinasa y hialuronidasa, son antigénicas y también de valor serodiagnóstico.

DESOXIRRIBONUCLEASAS A, B, C y D. Estas enzimas extracelulares que presumiblemente ayudan a la generación de sustratos para el crecimiento, son producidas por muchas cepas de

estreptococos del grupo A. Las nucleasas A y C sólo poseen actividad ADNasa, mientras que las B y D poseen -además- actividad ARNasa. Estas enzimas no son citotóxicas y no penetran la membrana plasmática de las células de mamíferos vivos, pero son capaces de despolimerizar el ADN altamente viscoso que se acumula en el pus como resultado de la desintegración de leucocitos polimorfonucleares.

Los títulos de anticuerpos para ADNasa tipo B son de gran valor en el serodiagnóstico de las infecciones faríngea o cutánea, especialmente en ésta última, en la cual la respuesta de antiestreptolisinas puede estar retardada (14,47).

Existe una proteinasa estreptocócica que se ha visto es capaz de destruir otro factor celular involucrado en la patogénesis, como es la proteína M.

Esta enzima es específica y probablemente puede afectar otras proteínas extracelulares como la estreptolisina O y la estreptoquinasa. La liberan algunas de las células estreptocócicas sólo cuando el pH del medio está entre 5.5 y 6.5, apareciendo en grandes cantidades en los filtrados de los cultivos, y obteniéndose en forma cristalina, puede inactivarse por la presencia de compuestos sulfhidrilo (14,43).

La búsqueda y, en ocasiones la titulación de los anticuerpos en contra de algunas de estas toxinas, se utilizan en el diagnóstico clínico.

IMPORTANCIA CLÍNICA.

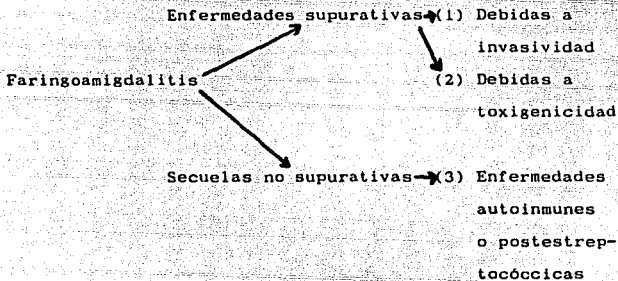
Los estreptococos producen una gran variedad de importantes enfermedades. En la era preantibiótica, los estreptococos se encontraban entre los patógenos más frecuentes y producían una morbilidad significativa.

Desde la introducción de las sulfonamidas y de la penicilina en las décadas de los años 30 y los 40, las enfermedades estreptocócicas se han controlado ya en forma más efectiva y las muertes son poco comunes. El principal patógeno para el hombre es el estreptococo del grupo A (Streptococcus pyogenes) que es el agente responsable de las secuelas no supurativas como la fiebre reumática y la glomerulonefritis (47).

Las infecciones estreptocócicas pueden dividirse, aunque en forma arbitraria, en varias categorías (26).

- | | |
|---|--|
| | 1. Impétigo |
| A. Enfermedades atribuibles a la invasión por estreptococos beta-hemolíticos del grupo A | 2. Fiebre puerperal |
| | 3. Infección generalizada |
| B. Enfermedades atribuibles a la infección por estreptococos beta-hemolíticos del grupo A y a sus productos | 1. Erisipela |
| | 2. Faringitis estreptocócica |
| | Diversos estreptococos, particularmente los enterococos, provocan a menudo infecciones del aparato urinario. |
| C. Otras infecciones | |
| | Fiebre reumática |
| D. Enfermedades postestreptocócicas | Carditis reumática |
| | Glomerulonefritis hemorrágica |

Gran parte de los padecimientos por estreptococos pueden tener su punto de inicio en una faringoamigdalitis, con síntomas de fiebre, dolor de garganta, aparición de placas purulentas, malestar general; así, a partir de la faringoamigdalitis tenemos:



(1). impétigo, sinusitis, oftalmias, septicemias, meningitis, otitis, endocarditis, artritis, angina de Ludwig, bronquitis, neumonía, infecciones urinarias.

(2). Erisipela, fiebre escarlatina.

(3). Fiebre reumática (carditis, artritis), glomerulonefritis hemorrágica (43).

Muchos estreptococos del grupo A producen una cápsula de ácido hialurónico que tiene poco significado antigénico, pero que puede incrementar la virulencia del microorganismo (14).

Los estreptococos del grupo A producen tres antígenos proteicos de superficie M, T y R que son útiles para la tipificación serológica.

Más del 90% de las cepas estreptocóccicas pueden clasificarse utilizando los antígenos M y T.

La proteína M es el principal factor de virulencia de los estreptococos del grupo A y parece inhibir la fagocitosis. En base a este antígeno proteico, se han descrito más de 60 tipos (47).

Los microorganismos que producen proteína M son resistentes a la fagocitosis en la circulación, aún en ausencia de anticuerpos específicos. La proteína es de naturaleza ácida, termoestable y sensible a tripsina.

Otros factores que desempeñan un papel en la inducción de lesiones orgánicas en sitios alejados, son la estreptolisina O y la toxina eritrogénica, descritas anteriormente.

CAPITULO II

ESTREPTOCOCO GRUPO A

El estreptococo beta hemolítico del grupo A ó Streptococcus pyogenes es la causa más común de faringitis bacteriana en niños de 5 a 10 años de edad.

Ocurre predominantemente durante la infancia, en los primeros años escolares, pero también puede ocurrir en forma epidémica en campos de entrenamiento militar y en dormitorios de colegios. La faringitis se caracteriza típicamente por fiebre, eritema y edema faríngeo, exudado tonsilar y linfadenopatía anterior cervical.

Sin embargo, la presencia de cada uno de estos hallazgos físicos varía de tal manera, que la diferencia entre la faringitis causada por el estreptococo beta hemolítico del grupo A y la causada por otros agentes etiológicos (por ejemplo viral, o por Mycoplasma) no pueden precisarse exactamente sólo sobre terrenos clínicos.

También las complicaciones supurativas a partir de infecciones faríngeas del estreptococo beta hemolítico del grupo A, no ocurren con frecuencia de abscesos peritonsilares y retrofaríngeos, más bien resultan de la diseminación del agente infeccioso por áreas contaminadas. La infección también puede propagarse hematológicamente para causar infección a otras zonas del cuerpo (por ejemplo, abscesos cerebrales, artritis séptica, endocarditis bacteriana aguda, o meningitis).

El estreptococo beta hemolítico del grupo A puede infectar

traumatismos, heridas quirúrgicas y heridas por quemaduras. La pioderma estreptocócica o impétigo es el resultado primero de la invasión intradérmica, seguido de la colonización de la piel de niños pequeños.

Cuando el microorganismo elabora la toxina eritrogénica puede producir fiebre escarlatina que afecta el tronco, cuello y extremidades.

De mayor interés están las secuelas no supurativas posteriores a la infección estreptocócica del grupo A: fiebre reumática aguda y glomerulonefritis hemorrágica aguda. Ambas complicaciones, fuertemente asociadas con los antecedentes de enfermedades supurativas causadas por Streptococcus pyogenes (6).

COLECCIÓN DE MUESTRAS.

Para llevar a cabo el aislamiento e identificación de este estreptococo hay necesidad de realizar una correcta toma de muestra y, los sitios más comunes de obtenerla son:

FARINGE.— La técnica empleada en la toma de muestra de la garganta con hisopo estéril, es tan importante en el aislamiento de los estreptococos como el cultivo de las muestras obtenidas. Los dos errores más comunes que resultan de una toma de muestra inadecuada son que el hisopo toque la lengua, dientes, o tejido de la úvula o campanilla además de la faringe y el otro, es la exposición inadecuada de la faringe, que debe estar adecuadamente expuesta e iluminada. Las amígdalas y la faringe se deben frotar enérgica y

cuidadosamente con el hisopo, evitando, como ya se mencionó, tocar otras zonas para no contaminar la muestra faringoamigdalina con las bacterias de la flora habitual.

NASOFARINGE.— Los cultivos se toman a través de las fosas nasales también con hisopo estéril que puede humedecerse en agua o solución salina estéril antes de introducirlo por la nariz. La punta de ésta se levanta con una mano, y el hisopo se introduce suavemente a lo largo del piso de la cavidad nasal, girando hasta que se alcance la pared faríngea.

No debe usarse la fuerza si se encuentra alguna obstrucción, el cultivo nasofaríngeo entonces no se tomará de ese lado.

PIEL.— La mejor manera de obtener las muestras es removiendo la costra de la pústula o capa vesicular. Los hisopos estériles deben frotarse firmemente dentro de la lesión. Esto puede causar al paciente dolor o molestia, pero el procedimiento es necesario para asegurar el máximo de recuperación de estreptococos (6).

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO.

La identificación del grupo A (Streptococcus pyogenes) puede realizarse por diferentes métodos.

La técnica más ampliamente usada es la susceptibilidad a la bacitracina, pero no todas las cepas de Streptococcus pyogenes la dan positiva.

En 1953, Maxted halló que el desarrollo de los estreptococos del grupo A se inhibía con una baja

concentración (0.02 a 0.04 unidades) de bacitracina contenida en discos de papel que se colocan sobre el medio de Hinton Mueller y a la cual la mayoría de los otros estreptococos no resultaban inhibidos. Así, el uso de los discos con una baja concentración de bacitracina, es el método más comúnmente empleado en los laboratorios clínicos para la identificación presuntiva de estreptococos del grupo A. Si bien el empleo de estos discos es bastante práctico para su identificación, una proporción estimada en 5 a 15% de los estreptococos susceptibles a la bacitracina aislados de fuentes clínicas, pueden pertenecer a otros grupos distintos al A. Por ejemplo, un 6% de los estreptococos beta hemolíticos del grupo B y un 7.5% del C y G son sensibles a la bacitracina. Esta proporción, relativamente alta de resultados falsos positivos, se puede reducir evaluando con cuidado el tipo de hemólisis ya que algunos de los estreptococos alfa hemolíticos del grupo viridans son también susceptibles a la bacitracina. La mayoría de los médicos está consciente de este porcentaje de falsos positivos. Dado que muchas cepas de estreptococos sensibles a la bacitracina de grupos distintos al A, presentan zonas de inhibición de 10 mm o menos, se ha sugerido y tratado de estandarizar que sólo una zona de inhibición de desarrollo de más de 10 mm identifica a los estreptococos del grupo A. Como existe otro tipo de discos con bacitracina que se emplean para las pruebas de sensibilidad antimicrobiana con 10 microgramos del antibiótico, se debe tener cuidado de no emplearlos para la identificación presuntiva de Streptococcus

pyogenes dado que la concentración del fármaco es demasiado elevada (10 microgramos contra 0.04 microgramos).

También se ha detectado que 2 a 7% de las pruebas con disco "A" pueden dar resultados falsos negativos, lo cual constituye potencialmente un problema más serio que el caso de los resultados falsos positivos, por el riesgo que implica el hecho de que una infección por estreptococos del grupo A no pueda reconocerse y el paciente quede sin recibir el tratamiento adecuado (28).

Una precaución muy importante a considerar, es que la técnica del disco de bacitracina se ha diseñado exclusivamente para realizarse en cultivos puros, nunca del cultivo primario, ni en casos de cultivo mixto.

La presencia de las peroxididasas producidas por algunas de las otras bacterias que desarrollan en el cultivo mixto, puede inhibir la producción de hemolisinas.

Existen otros métodos sencillos, que se recomiendan para un laboratorio de capital mediano como por ejemplo: la prueba de hidrólisis del hipurato de sodio, la de CAMP y la de coagulación.

Si se dispone de las pruebas de hidrólisis del hipurato de sodio y de CAMP que deben ser negativas para descartar que los microorganismos no sean del grupo B. Se puede confirmar la identificación presuntiva de los estreptococos del grupo A en base a la susceptibilidad a la bacitracina (disco "A") y a sus reacciones hemolíticas.

Respecto a la prueba de la hidrólisis del hipurato de

sodio, los estreptococos del grupo B tienen la capacidad de hidrolizar el hipurato de sodio, mientras que la mayoría de los otros estreptococos beta hemolíticos carecen de esta propiedad.

En lo tocante a la prueba de CAMP, en 1944 fue descrita por Christie, Atkins y Munch-Peterson y debe de dar un resultado negativo para el grupo A ya que la prueba sirve para identificación del grupo B, por lo cual siendo negativa, se tiene la certeza de que no pertenece a este grupo (28).

La reacción de coagulación es, sin duda, más específica que las dos reacciones anteriores para identificar -según los autores y la casa comercial- en forma confirmativa a los estreptococos de varios grupos entre ellos al A (43).

IDENTIFICACIÓN INMUNOLÓGICA. La identificación definitiva del estreptococo se realiza con sueros específicos.

El método más específico y exacto para la identificación de los estreptococos beta hemolíticos del grupo A y en general de los estreptococos, consiste en cultivar colonias puras y aisladas del microorganismo extrayendo posteriormente el carbohidrato específico de grupo y demostrándolo por medio de una reacción serológica entre este antígeno extraído y el suero específico de grupo (Reacción de Lancefield). Esta forma de agrupación serológica es el método más recomendado por el Centro para el Control de la Enfermedad de Atlanta (CDC), se reconoce, sin embargo, que todos los pasos requeridos para la realización de este método requieren mucho tiempo y que el costo para obtener los sueros anti-específicos potentes lo

hace inaceptable para los trabajos rutinarios de la gran mayoría de los laboratorios (30,43).

La técnica de extracción del antígeno se hace con HCl diluido (pH 2) a 100°C por 10 minutos, neutralizándolo y centrifugándolo, el sobrenadante claro contiene el antígeno. Otro método de extracción es por tratamiento con formamida a 150°C en autoclave (14).

REACCIÓN DE COAGLUTINACIÓN.- Esta prueba es específica para identificar a los estreptococos de varios grupos entre ellos el A, en ella, el fragmento Fc de casi cualquier anticuerpo se fija a la proteína A de Staphylococcus aureus, de este modo, los estafilococos con un anticuerpo conocido adherido, se aglutinan cuando se mezclan con el antígeno específico.

Se observó que muchos aislamientos de Staphylococcus aureus sobre todo de la cepa Cowan, tienen una capa de proteína externa llamada proteína A, que puede directamente combinarse con la porción Fc de casi cualquier anticuerpo, principalmente la IgG.

Por esto, cuando se cuenta con reactivos serológicos en los que un anticuerpo específico (IgG), se adsorbe a la superficie de los estafilococos y las esferas de bacterias se utilizan como partículas acarreadoras inertes, el enlace entre la Fc y la proteína A es de alta afinidad y la reactividad de las partículas acarreadoras es de larga vida (21,43).

Entre algunas de las ventajas de la coaglutinación, se señala que la producción del reactivo se considera relativamente no costosa, además de que la adsorción de IgG a

la superficie del estafilococo es rápida y estable.

Las técnicas de coagulación, permiten identificar otros grupos como B, C y G, involucrados en la patogénesis de enfermedades atribuidas anteriormente al grupo A (como piodermitis, faringitis, glomerulonefritis, etc) (43).

REACCIÓN DE PRECIPITACIÓN.- Esta prueba se ha utilizado ampliamente como una prueba cualitativa o semicuantitativa para valorar el título de anticuerpos en el suero. Los complejos formados por anticuerpos y antígenos macromoleculares suelen ser insolubles, precipitando cuando se encuentran en solución.

REACCIÓN DE PRECIPITACIÓN EN GEL.- Cuando se introducen anticuerpos y antígenos en zonas distintas de un gel de agar estas sustancias difunden libremente la una hacia la otra neutralizándose y formando bandas opacas de precipitado muy visibles en los puntos de contacto de sus frentes de difusión. La demora en los resultados hace que esta reacción no se realice rutinariamente en los laboratorios para tipificación. (14, 17, 27).

REACCIÓN DE AGLUTINACIÓN.- Las bacterias y otras células se agregan (aglutinan) cuando se mezclan con sueros específicos preparados frente a sus antígenos. Este método es sencillo para detectar los anticuerpos que se hallan en el suero.

Otros métodos que también se han empleado últimamente en la identificación de los estreptococos son: inmunofluorescencia, inmunolectroforesis y contraelectroforesis. Las ventajas de estos métodos son:

- a) diagnóstico definitivo pocas horas de haber obtenido la muestra del paciente.
- b) capacidad (en el caso de la inmunofluorescencia) de detectar pequeños números de estreptococos en cultivos mixtos.
- c) capacidad para detectar cepas no hemolíticas -específicamente de los estreptococos del grupo B-, generalmente no detectados por los métodos convencionales.

Sin embargo, tiene varias desventajas como son el costo del equipo y las variaciones en especificidad de algunos reactivos comúnmente utilizados.

Con las técnicas inmunológicas, un diagnóstico de buen nivel depende esencialmente de la calidad del suero a examinar y, en el caso de los métodos de precipitación, también del antígeno (34).

PRUEBA DE INMUNOENSAYO-LIPOSOMA.

Esta prueba se utiliza para una rápida identificación de los estreptococos del grupo A directamente del hisopo con la muestra de faringe. Es una prueba nueva de inmunoensayo de fase sólida-liposoma.

Para la realización -a grandes rasgos- de esta técnica, el hisopo con la muestra se introduce en un tubo de plástico y se agregan gotas de nitrato de sodio 2M, ácido acético 2M y se incuba un minuto a temperatura ambiente en un amortiguador 0.66N de hidróxido de sodio. Después el contenido del tubo se vacía a una membrana revestida la cual está fija sobre una caja de plástico, una vez que el líquido se absorbió se agregan 3 gotas de anticuerpo (antiestreptococo grupo A

obtenido en conejo) absorbido en el liposoma, por último, se lava con unas gotas del amortiguador.

Un resultado positivo se ve por la presencia de un triángulo de color rosa oscuro en el centro de la membrana, y la ausencia de éste como negativo. Se menciona un 91% de sensibilidad con una especificidad de 83% para esta prueba, que además es muy rápida para el diagnóstico de la faringitis causada por el estreptococo beta hemolítico del grupo A, en comparación con los cultivos en agar sangre y todas las pruebas conducentes a la identificación, que son más tardadas (23) .

PRUEBA DE AGLUTINACIÓN CON LÁTEX PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTIESTREPTOLISINA "O".

Los clínicos han usado la titulación de los anticuerpos producidos por los antígenos celulares estreptocócicos para ayudar en el diagnóstico de las complicaciones no supurativas por Streptococcus pyogenes como son la fiebre reumática y la glomerulonefritis. También se ha empleado esta prueba en investigación, para estudiar la epidemiología y patogénesis de dicho microorganismo como agente etiológico de las enfermedades no supurativas. Desde la descripción original de la antiestreptolisina O (ASO) hecha por Todd en 1932, la prueba de la titulación de antiestreptolisinas ha sido la más empleada para la titulación de los anticuerpos producidos por el antígeno extracelular estreptolisina O. En muchos laboratorios clínicos, solamente esta prueba es la que se usa para determinar o valorar los anticuerpos

antiestreptocócicos. Sin embargo, tiene algunos inconvenientes como el ser un procedimiento complicado, tardado, que requiere de un buen equipo de laboratorio, además del uso de eritrocitos de conejo que son inestables cuando se almacenan. En el nuevo método de aglutinación con partículas de látex, comparándolo con el de neutralización estándar, se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.93, una sensibilidad de 91% y una especificidad de 86%. Se encontró, además, que la prueba de aglutinación con látex es rápida y sencilla para medir títulos de ASO.

La realización de la técnica - según sugiere el fabricante - requiere de hacer diluciones de la muestra de suero 1:200, 1:400, 1:800, etc. luego se coloca una gota de cada dilución más una gota de látex, se mezclan y manualmente se gira suavemente durante tres minutos observándose si existe o no aglutinación, es decir, si la prueba es positiva o negativa. A la vez, siempre se debe correr un control positivo y un control negativo en la prueba.

Los títulos se reportan en Unidades Internacionales UI, una de estas unidades equivale a 1.04 Unidades Todd (22).

IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS A Y B POR TINCIÓN DE INMUNO-FLUORESCENCIA.

Entre los avances recientes para la detección directa de los antígenos de los estreptococos A y B a partir de hisopos con muestras faríngeas o vaginales, está la inmunofluorescencia, que tiene ventajas sobre las técnicas convencionales de identificación como pueden ser la rapidez (ya que requiere de

horas y no de días), la sensibilidad (ya que puede detectar un pequeño número de estreptococos en cultivos mixtos) y el poder identificar a algunas cepas de estreptococos no hemolíticos del grupo B que a menudo dan resultados erróneos con los métodos convencionales.

El reactivo que se emplea es un conjugado compuesto de diferentes diluciones de IgG anti-carbohidrato específico de grupo marcado con isotiocianato de fluoresceína (6).

TRATAMIENTO.

La penicilina es el agente antimicrobiano de elección ya que, inclusive, la Asociación Americana del Corazón la recomienda para la prevención de la fiebre reumática y de la tonsilofaringitis estreptocócica (prevención primaria de la fiebre reumática) así como la prevención de enfermedades recurrentes (prevención secundaria de la fiebre reumática).

La penicilina puede darse en dosis de 250 mg tres veces al día en adultos y niños para la prevención en forma primaria, y dos veces al día en la prevención secundaria (12,13,43).

En la corea de Sydenham, el régimen terapéutico durante la fase aguda consistió en la aplicación de penicilina G sódica 100,000 a 150,000 unidades/Kg/día, vía intramuscular; fenobarbital 3 a 8 mg/kg/vía oral o intramuscular, clorpromacina 1 a 2 mg/Kg/vía oral o intramuscular y reposo absoluto. La prevención secundaria o profilaxis consistió en la aplicación intramuscular de penicilina benzatínica 1,200,000 unidades cada 28 días (10) .

CAPITULO III

ESTREPTOCOCO GRUPO B.

En contraste con los estreptococos de los grupos A, C y G, el de grupo B es el más notable por su papel como agente etiológico de la sepsis y meningitis neonatales, dos formas de infección en el recién nacido, que se han reconocido de importancia tanto clínica como epidemiológica.

Estas enfermedades se pueden adquirir en dos formas: la temprana que ocurre comúnmente dentro de los primeros 10 días después del parto y la posterior, que ocurre después de los 10 días del parto. En la forma temprana el microorganismo se adquiere del tracto femenino, tal vez por aspiración a la hora del parto. En la forma posterior se adquiere el microorganismo en el hospital. Es común la septicemia en cualquiera de las 2 formas de la enfermedad; sin embargo, predomina la infección en pulmón durante la fase temprana y la meningitis es común en la fase posterior. La morbilidad es más alta en la fase temprana (1.4).

Otras enfermedades causadas por estreptococo de grupo B en niños y adultos incluyen septicemia, endocarditis, neumonía, osteomielitis, artritis séptica y sepsis puerperal. También la presencia de $\geq 10^5$ unidades formadoras de colonias/ml de estreptococo en orina, frecuentemente es indicativo de bacteriuria, mientras que la presencia del microorganismo en orina, en menor número, puede representar contaminación uretral (39).

Todos los estreptococos beta hemolíticos son susceptibles a

los antibióticos del grupo de los beta-lactámicos; por lo menos 95% de los estreptococos aislados en USA son susceptibles a eritromicina; sin embargo, la susceptibilidad a las tetraciclinas es variable (6).

El fracaso de la penicilina en el tratamiento de las enfermedades por estreptococo beta hemolítico grupo B se ha atribuido a que las pacientes durante el parto están recibiendo terapia oral, y existen ya bacterias productoras de beta-lactamasa (ejemplo: Staphylococcus aureus, productor de beta lisinas, especies de Bacteroides, Branhamella catarrhalis, o especies de Haemophilus). El fracaso de la penicilina en la terapia de las enfermedades invasivas del estreptococo hemolítico del grupo B se ha atribuido a un número grande de UFC/ml de fluido cerebroespinal en pacientes con meningitis o a la presencia de bacterias tolerantes a la penicilina.

Ultimamente se ha empleado con mucho éxito, la combinación de penicilina o ampicilina con un aminoglucósido, ya que in vitro y en modelos experimentales con endocarditis y enfermedades invasivas por estreptococo grupo B (Streptococcus agalactiae) particularmente meningitis, se trataron con combinaciones semejantes y fueron del todo efectivas (6).

El estreptococo Grupo B (Streptococcus agalactiae) se aisló primeramente de mastitis bovina, y ocasionalmente se encontraba en enfermedades en humanos. Sin embargo, durante las 2 décadas pasadas, ha asumido especial importancia sobre todo -como ya se ha mencionado- en las enfermedades

neonatales. Son causa común de epidemias por meningitis y septicemias en guarderías de recién nacidos.

Se conocen varios tipos serológicos de estreptococo grupo B. En contraste con el grupo A el tipo específico en este grupo depende del polisacárido capsular, el cual es el principal determinante de virulencia. En vista de su asociación con meningitis, es de interés que el estreptococo B (Streptococcus agalactiae) comparte con el meningococo la propiedad de tener ácido siálico como un importante componente del polisacárido. De los tipos definidos del grupo B, todos se han encontrado asociados con las enfermedades neonatales; sin embargo el tipo III es el más común.

La susceptibilidad de los recién nacidos parece estar relacionada a la ausencia de anticuerpos protectores, ya que los infantes afectados tienen niveles inadecuados de anticuerpos transmitidos por la madre (14).

La primera cepa que por sus características correspondía a Streptococcus agalactiae, la aislaron Nocard y Mollerau en 1887, de un caso de mastitis bovina.

Originalmente se le dio el nombre de Streptococcus nocardii, designándosele después con una serie de sinónimos: Streptococcus mastitis contagiosae, Streptococcus mastitis sporadicae, Streptococcus agalactiae contagiosae, Streptococcus mastiditis.

La designación de Streptococcus agalactiae la propuso Brown en el 4° Congreso Internacional de Microbiología, quién además propuso también subdividir las especies bovinas en tres

variedades: Streptococcus agalactiae, Streptococcus mastiditis y Streptococcus asalignus, basándose en estas características: Streptococcus agalactiae var. agalactiae para aquéllas que no produjeran hemólisis franca. Streptococcus agalactiae var. mastiditis para las que se observara una hemólisis total y Streptococcus agalactiae var. asalignus para las cepas que, a diferencia de los otros dos, no fermentaran la salicina. Todas las especies correspondientes a Streptococcus agalactiae se clasifican dentro del grupo de Lancefield (27,34).

La membrana citoplásmica está formada, en su mayor parte, por lípidos y proteínas.

La pared celular se ha identificado, desde el punto de vista químico, que está formada por peptidoglicano (llamado también glucopéptido, mucopéptido, o mureína), en algunos se detectan cadenas accesorias de ácidos teicoicos que se hallan unidas en forma covalente a la superficie externa de la célula (14,34).

La composición química del estreptococo de grupo B (Streptococcus agalactiae), se encamina principalmente a conocer la constitución de los polisacáridos específicos. De acuerdo con las investigaciones de Lancefield, se localizan en la pared celular distinguiéndose en la mayoría de las cepas dos clases diferentes de carbohidratos: el carbohidrato B, grupo-específico o sustancia "C" común a todas las cepas y situado en la capa media de la pared celular, mientras que el polisacárido tipo-específico o sustancia "S", se piensa que sea capsular. El conocimiento de la sustancia "S" ha permitido la diferenciación de las cepas en sus distintos tipos. Los

polisacáridos de este grupo los han analizado varios autores, utilizando diferentes técnicas de extracción.

Lancefield inicialmente distinguió tres grupos serológicamente distintos: I, II y III basándose en el polisacárido capsular. Su esquema se amplió posteriormente a 4 tipos: Ia, Ib, II y III. La especificidad de los polisacáridos se ha comprobado induciendo la formación de anticuerpos protectores. A estos serotipos se han agregado después los antígenos proteicos R y X, los cuales tienen significado especialmente en cepas bovinas (29).

Streptococcus agalactiae comparte algunas propiedades con los demás miembros del género; sin embargo, posee algunas características fisiológicas y fermentativas que le son propias.

En agar-sangre puede observarse hemólisis con distintos grados de intensidad, que va desde la hemólisis completa, a la parcial y aún ausencia de hemólisis. El crecimiento en caldo suero se observa granular y floculento y únicamente en el fondo de los tubos; el resto del caldo permanece claro. Hidroliza el hipurato de sodio; la glucosa, lactosa, sacarosa y maltosa son regularmente fermentados, al igual que la salicina, no muestra reacción con la inulina, manitol y rafinosa, no hidroliza la esculina. Algunas cepas de Streptococcus agalactiae producen en medios sólidos colonias pigmentadas, rojizas, especialmente si el medio contiene almidón. Aproximadamente el 90% de las cepas producen hialuronidasa y en el 96% se observa un fenómeno lítico

aplicable a la prueba de CAMP (2,25,34).

En este microorganismo se han reportado de especial interés la producción de hemolisina, nucleasa, hialuronidasa y la enzima intracelular hipuricasa.

HEMOLISINAS-. Los estreptococos de grupo B (Streptococcus agalactiae) muestran en promedio, una baja actividad hemolítica dependiendo de la composición química del medio, calidad de la peplona, tipo de sangre, contenido de carbohidratos y tensión de O₂. Algunas cepas producen hemólisis sólo bajo condiciones de anaerobiosis. Esta actividad hemolítica es producida por una hemolisina soluble, distinta de las hemolisinas S y O de los estreptococos de grupo A y puede manifestarse como hemólisis completa, parcial y aún ausencia de ésta.

Es interesante también la formación de una doble zona de hemólisis en placas de agar sangre, con una zona central de hemólisis total y una periférica de hemólisis parcial.

Otra manifestación hemolítica importante y de gran interés, es la capacidad que muestra una sustancia extracelular del estreptococo grupo B, la cual sensibiliza los glóbulos rojos dando como resultado una hemólisis completa (27,34). Este fenómeno se aprovecha para la prueba de CAMP, con valor diagnóstico.

DESOXIRRIBONUCLEASA.- La producción de esta enzima se ha detectado en un alto porcentaje de cepas de Streptococcus agalactiae en todos sus tipos. Se han identificado 3 nucleasas diferente designadas como I, II, III y todas son

inmunológicamente diferentes de las nucleasas producidas por el estreptococo de grupo A (Streptococcus pyogenes).

Se ha detectado en el suero humano, principalmente en el de embarazadas colonizadas por estreptococo de grupo B (Streptococcus agalactiae) y sus productos, una actividad neutralizante hacia estas nucleasas, probablemente debida a la formación de anticuerpos (20,27).

HALURONIDASA.- El estreptococo grupo B (Streptococcus agalactiae) es uno de los microorganismos que la producen en un alto porcentaje. Se ha visto que aún las colonias rugosas, formadas por microorganismos avirulentos, producen hialuronidasa, lo que hace presuponer que esta enzima no se relaciona con la virulencia (27,35).

HIPURICASA.- Desde hace tiempo se conoce la capacidad que tiene el estreptococo de grupo B (Streptococcus agalactiae) para hidrolizar el ácido hipúrico, dando como productos resultantes ácido benzoico y glicina. Esto se mencionará también al hablar del diagnóstico.

FACTORES DE VIRULENCIA. En el grupo B no se observa la virulencia específica detectada, por ejemplo, en los Estreptococos de grupo A, más bien como oportunistas que son, su patogenicidad está regularmente ligada a factores que provocan en el paciente una baja de defensas.

Los serotipos Ia y III son los más comúnmente asociados con las enfermedades de neonatos y parecen localizarse con frecuencia en el tracto respiratorio y en el sistema nervioso central respectivamente (46).

El estreptococo grupo B tipo III que contiene ácido siálico en su composición antigénica, parece poseer propiedades invasivas, ligadas a su organotropismo por las meninges de los neonatos. La presencia de este ácido bien pudiera estar relacionada con la patogenicidad de este microorganismo.

La identificación por bacteriófagos se considera de importancia, debido a que se han encontrado cepas que no han podido clasificarse utilizando el esquema de Lancefield, entonces, la tipificación por medio de fagos ha demostrado ser de utilidad en la identificación de algunos microorganismos causantes de contaminación en hospitales, como podrían ser los estafilococos y algunas bacterias Gram negativas. Se reporta haber logrado reunir un juego de 24 fagos que se han usado ventajosamente en la detección de focos de infección en varios hospitales.

Las investigaciones acerca del aislamiento de fagos y su aplicación en la tipificación de cepas, recién comienza.

La taxonomía del estreptococo de grupo B se basa en la presencia de polisacáridos capsulares. La especificidad serológica de estos antígenos se ha establecido en base a la formación de anticuerpos protectores y técnicas de precipitación (34).

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO.

Los estreptococos se encuentran entre las bacterias más exigentes y con mayores requerimientos nutritivos. No existe un medio específico para su crecimiento, pero se necesita que

estos sean enriquecidos, complementados con aminoácidos, vitaminas del complejo B, purinas y pirimidina, que favorecen su crecimiento. Los medios que son favorables y más comúnmente usados para el desarrollo de estreptococos patógenos, son medios adicionados de sangre total, suero sanguíneo ó trasudados (34,36).

El estreptococo puede estar presente en grandes cantidades como componente de la flora habitual, pero bajo ciertas circunstancias puede estar asociado a enfermedades, o ser el principal responsable de ellas.

El aislamiento presenta problemas porque pueden encontrarse en diferentes partes del organismo, especialmente en nasofaringe, la región cérvico-vaginal, el intestino y, mezclado con otras bacterias que entorpecen su desarrollo en los medios de cultivo, o bien, enmascaran su presencia. Generalmente se obtienen a partir de sangre, líquido cefalorraquídeo, pus, orina, exudado vaginal, etc.

En estos casos es importante decidir el valor de la presencia de estas bacterias en la integración del diagnóstico (31,34).

Cuando se trata de aislar a Streptococcus agalactiae a partir de sitios con flora mixta, se hace necesario el empleo de medios selectivos si se desea conocer la frecuencia real, sobre todo de la colonización vaginal por este agente (32).

En 1973, Baker describió el medio de Todd-Hewitt con sangre de carnero, adicionado de ácido nalidixico (15 microgramos/ml) y sulfato de gentamicina (8 microgramos/ml). Dicho medio inhibe

el crecimiento de la flora habitual del tracto genital femenino, sin inhibir el crecimiento del estreptococo (3). Este medio ha resultado ser apropiado para la detección del microorganismo en mujeres embarazadas o en trabajo de parto, así como en neonatos con alto riesgo de enfermedad.

La manera clásica de identificar al estreptococo es, como ya se mencionó para el grupo A, ver primero si es o no hemolítico y posteriormente determinar a qué grupo serológico pertenece, para determinar éste se requiere de sueros específicos y usualmente tarda de dos a tres días complementar las pruebas, por esta razón se han desarrollado diferentes pruebas bioquímicas y técnicas serológicas directas y así obviar tiempo y lograr una rápida identificación.

La apariencia de las colonias en placas de agar-sangre de carnero después de 24 hrs de incubación, es distinta a aquéllas del grupo A. Son generalmente de color gris, aspecto suave y apariencia mucoide, regularmente mayores de 2mm. y rodeadas por una pequeña zona de hemólisis beta. Tienen la característica de que al levantarlas con el asa recta, resbalan sobre el medio.

Aunque la hemolisina del estreptococo de grupo B (Streptococcus agalactiae), como ya se mencionó antes, no parece estar relacionada con la estreptolisina O, -oxígeno lábil del estreptococo de grupo A-, la determinación de la hemólisis generalmente se complementa con la observación microscópica de las capas internas del agar, o incubando las placas en atmósfera de CO₂ (5% a 10%).

Una vez detectado el estreptococo beta hemolitico en el laboratorio, una combinación de pruebas bioquímicas permite la identificación de una colonia presumiblemente de estreptococo grupo B (Streptococcus agalactiae).

Estas pruebas comprenden: ausencia de susceptibilidad a la bacitracina la cual ya se mencionó anteriormente cuando se trató del grupo A, hidrólisis del hipurato de sodio y prueba de CAMP (utilizada como auxiliar para la identificación del estreptococo grupo B que se ha utilizado ampliamente en Microbiología Veterinaria) (34); ambas se tratarán enseguida.

Respecto a la prueba de la hidrólisis del hipurato de sodio, los estreptococos del grupo B tienen la capacidad de hidrolizar al hipurato de sodio, mientras que la mayoría de los otros estreptococos carecen de esta propiedad (28).

Las bacterias que poseen la enzima hipuricasa son capaces de hidrolizar el ácido hipúrico a ácido benzoico y glicina para luego evidenciar su producción utilizando cloruro férrico que detecta el ácido benzoico, o ninhidrina que revela la presencia de glicina, ambos por un cambio específico de color al agregar dichos reactivos a un cultivo del microorganismo en medio líquido.

La prueba con ninhidrina para detectar la glicina permite apreciar la hidrólisis del hipurato en 4 horas, en contraste con las 24 horas que se requieren para la prueba con cloruro férrico para la detección del benzoato; debido a que la primera reacción es más sensible, se deben efectuar pruebas adicionales a fin de excluir enterococos beta hemolíticos, ya

que algunas cepas reaccionan positivamente con la ninhidrina. Los estreptococos del grupo D, incluyendo los enterococos, son bilis-esculina negativos. Los estreptococos beta hemolíticos que hidrolizan hipurato pero son bilis-esculina negativos pueden ser considerados presuntivamente como estreptococos del grupo B (28).

En lo tocante a la prueba de CAMP, en 1944 fue descrita por Christie, Atkins y Munch Peterson y debe de dar un resultado negativo para el grupo A ya que la prueba sirve para la identificación del grupo B; por lo cual siendo negativa, se tiene la certeza de que no pertenece a este grupo. El factor de CAMP es una sustancia extracelular producida por los estreptococos del grupo B, que intensifica la lisis de los glóbulos rojos que produce la beta lisina estafilocócica. La prueba se realiza estriando una placa de agar-sangre con una cepa de estafilococos productores de beta lisina, sin tocarse y en forma perpendicular a la estria de los estreptococos beta por investigar. Un área de hemólisis más intensa, detectada por la presencia de una zona de aclaramiento en forma de punta de flecha donde se acercan ambas estrias, indica una identificación positiva de estreptococos del grupo B (28).

MEDIO NUEVO DE GRANADA PARA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ESTREPTOCOCO DE GRUPO B.

Streptococcus agalactiae es -como ya se mencionó- una causa importante de morbilidad perinatal e infantil en todo el mundo aunque puede también causar serias enfermedades en adultos. Se ideó recientemente un medio para la identificación del

estreptococo grupo B, se llama Medio Nuevo de Granada. Su fundamento es la producción de un pigmento carotenoide de color anaranjado que es una característica única del estreptococo beta hemolítico de grupo B aislado a partir de humanos, dicha producción de pigmento varía de acuerdo al medio de cultivo usado y sirve como base para detectar en especímenes clínicos, la presencia de Streptococcus agalactiae.

El medio contiene: peptona, almidón, suero, MgSO₄, glucosa, piruvato, metotrexato (para la intensificación del pigmento), ácido morfolinpropanosulfónico, amortiguador y agentes selectivos. Es un medio selectivo, diferencial y rápido. Se ha reportado que este método tiene un 100% de especificidad y la sensibilidad, partiendo de cultivos puros de estreptococo, oscila entre 97% a 100% (16).

TRATAMIENTO.

En las enfermedades por estreptococo grupo B, las opiniones acerca de administrar o no antibióticos a embarazadas colonizadas no están de acuerdo, hay algunos que sugieren administrarlos después del nacimiento de sus productos.

La penicilina es el antibiótico más usado tanto en infantes como adultos, a pesar de que el estreptococo grupo B muestra una menor susceptibilidad a este antibiótico. Otros antimicrobianos alternativos son ampicilina y eritromicina, aunque no son ideales ni seguros en un 100% de los casos; para la prevención de la transmisión intrahospitalaria, las medidas higiénicas son las más adecuadas.

CAPITULO IV

GRUPOS C Y G DE LANCEFIELD.

Las especies comprendidas dentro del grupo C son las siguientes:

S. equisimilis

S. zooepidemicus

S. equi

S. dysgalactiae

Los tres primeros son beta hemolíticos y la última produce reacción alfa. De acuerdo con Edwards, el grupo se subdivide en base a su acción sobre sorbitol y trealosa.

Respecto al grupo G de Lancefield, no cuenta aún con un conjunto de especies universalmente aceptado.

Los estreptococos que poseen al polisacárido de grupo y presentan la forma de colonia "grande", con frecuencia se denominan Streptococcus canis, debido a que se han aislado de la garganta de los perros, estos microorganismos se asemejan a Streptococcus pyogenes, fermentan trealosa pero no sorbitol. Por medio de la aglutinación se han reconocido tres tipos serológicos. Estos microorganismos se han aislado de la garganta del hombre y animales enfermos (particularmente del perro).

Se distingue por otro lado, dentro de los estreptococos G, a los que siendo beta hemolíticos, producen colonias de la forma "diminuta" y se les denomina Streptococcus anginosus según el Manual de Bergey.

En 1924, Hitchcock fue el primero en demostrar que la mayoría de los estreptococos responsables de enfermedades humanas poseían un polisacárido antigénico serológicamente activo y el trabajo de Rebeca Lancefield en 1933 demostró que éste se podía extraer.

Los grupos polisacáridos de los estreptococos son completamente atóxicos y funcionan como haptenos, ya que solo actúan como inmunógenos cuando se encuentran unidos a la pared celular bacteriana.

En el grupo C los datos reportados por Krause, indican que sus paredes celulares contienen un mucopéptido similar al del grupo A, constituido principalmente por N-acetilglucosamina, ácido N-acetilmurámico, alanina, lisina, ácido glutámico y glicina. Igualmente su carbohidrato específico es ramnosa-N-acetil-galactosamina y constituye el principal determinante del grupo.

En lo relativo al grupo G, en ciertos aspectos el contenido químico de las paredes celulares y los antígenos específicos de grupo de estos estreptococos se asemejan a los de A y al C; el mucopéptido del grupo G es similar y los azúcares constituyentes del carbohidrato son N-acetilgalactosamina y galactosa. La especificidad antigénica, por estudios serológicos, sugiere que depende del monosacárido L - ramnosa (11,37).

Respecto a las características de cultivo y a las bioquímicas de los estreptococos de grupo C, se tiene lo siguiente:

Streptococcus equisimilis. - La morfología microscópica y

macroscópica de esta especie se asemeja a la de Streptococcus pyogenes.

Streptococcus zooepidemicus. - También su morfología celular y colonial es indistinguible de la de Streptococcus pyogenes.

Streptococcus equi. - Esta especie presenta células ovoides o esféricas que también miden entre 0.6 y 1 micra de diámetro, pueden aparecer estreptobacilos.

Streptococcus dysgalactiae. - Son células ovoides o esféricas aunque sus colonias son similares macroscópicamente a las de Streptococcus pyogenes, esta especie es alfa hemolítica.

Bioquímicamente producen ácido de glucosa, maltosa, sacarosa y trealosa, pero no de rafinosa, inulina, glicerol y manitol; su actividad sobre lactosa, sorbitol y salicina es variable (15,37).

Tocante al grupo G, las características de cultivo y bioquímicas, permiten distinguir dos tipos de colonias: las llamadas "grandes" y las consideradas "diminutas".

Las primeras las originan microorganismos designados generalmente como Streptococcus canis, los cuales son micro y macroscópicamente indistinguibles de Streptococcus pyogenes, son productoras de colonias "mate"; las consideradas "diminutas" (Streptococcus grupo G Tipo I), presentan un diámetro más pequeño que el común en el género, de 0.4 a 0.8 micras y manifiestan hemólisis total relativamente grande después de la incubación durante 48 a 96 horas.

De entre los productos celulares producidos por los grupos C y G, están los siguientes.

HEMOLISINAS. Las estreptolisinas O de los grupos A, C y G son idénticas inmunológicamente y poseen actividad citolítica para eritrocitos, leucocitos y células miocárdicas en cultivos de tejidos.

La estreptolisina S la sintetizan la mayoría de las cepas A, C, y G, lisa a los eritrocitos más lentamente que la estreptolisina O.

EXOTOXINA PIRÓGENA (toxina eritrogénica). Anteriormente se consideraba que esta toxina sólo la producían determinadas cepas de Streptococcus pyogenes infectadas por fagos lisogénicos (que les confieren la información genética requerida para su síntesis), ahora se sabe que, además, esta propiedad puede presentarse en los grupos C y G.

NUCLEASAS. Los estreptococos de los grupos C y G elaboran nucleasas aunque según algunos investigadores, lo hacen en menor proporción que los pertenecientes al grupo A.

ESTREPTOCINASA (fibrinolisisina). La mayoría de los estreptococos de los grupos A, C y G la producen, pero en cantidades que varían de una cepa a otra.

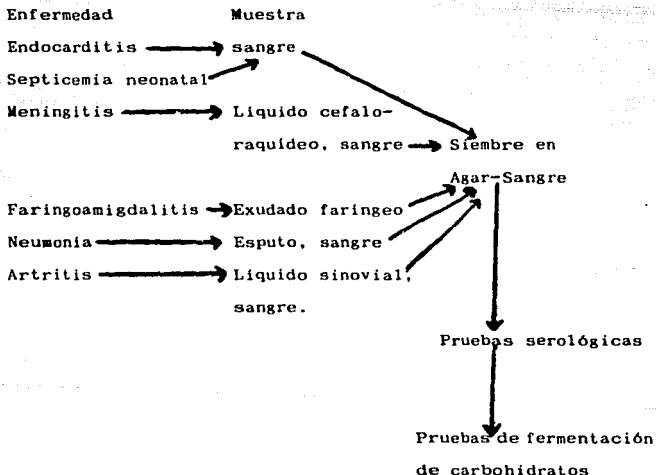
Difosfopiridinucleotidasa (DPNasa). La mayoría de las cepas de los grupos A, C y G producen una enzima extracelular que hidroliza al fosfopiridín nucleótido denominada DPNasa (nicotinamida adenina dinucleotidasa) o NADasa ya que libera nicotinamida a partir del difosforipiridín nucleótido. Esta exoenzima muestra efectos leucotóxicos sólo cuando las células estreptocócicas son ingeridas por los fagocitos.

HIALURONIDASA.- Es antigénica y, aunque su modo de actuar es

exactamente el mismo. la forma producida por las cepas del grupo A es inmunológicamente distinta a la sintetizada por los del C o por los del G (37,42).

Diagnóstico de Laboratorio.

Para el diagnóstico de laboratorio se puede hacer uso de un esquema de la metodología empleada en el aislamiento e identificación de los estreptococos C y G.



Las pruebas serológicas se realizan con cualquiera de los reactivos disponibles comercialmente para la prueba de coagulación (Phadebact) o de aglutinación con partículas de látex (Streptex). Actualmente se han hecho modificaciones al procedimiento original, las cuales permiten realizar la

determinación del antígeno de grupo directamente del aislamiento primario en la placa de agar-sangre e, inclusive, a partir de muestras clínicas (37,44,45).

Las pruebas de fermentación de carbohidratos se realizan después de conocer el grupo serológico. Si se trata de identificar el grupo C se efectúan las fermentaciones de trealosa y sorbitol, mismas que dan reacción positiva si el indicador vira de color púrpura a amarillo.

En el caso del grupo G, por lo general no se llevan a cabo estas pruebas, ya que la morfología colonial determina si se trata de los estreptococos de colonia "grande" (Streptococcus canis) o "diminuta" (Streptococcus anginosus), sin embargo, si llega a ser necesario, bastará hacer la fermentación de rafinosa para diferenciar a las dos especies, ya que Streptococcus anginosus es la única especie -de entre las dos- que la da positiva (15,37).

Diversas enfermedades se han puesto de manifiesto últimamente, causadas por los estreptococos grupos C y G, a pesar de que fueron caracterizados por Rebeca Lancefield desde 1933.

ENDOCARDITIS INFECCIOSA. Anteriormente no se le señalaba papel alguno en esta enfermedad, sin embargo, los estreptococos de los grupos C y G pueden encontrarse como agentes etiológicos de un padecimiento que se define como el proceso infeccioso que ataca al miocardio.

La endocarditis (aguda y subaguda) puede ser provocada tanto por los estreptococos del grupo C como por los pertenecientes al G.

La edad promedio de los pacientes con endocarditis infecciosa, en general, varía de 40 a 50 años y aproximadamente el 50% ó más son mayores: es poco frecuente en niños y se presenta más en hombres que en mujeres (8.37).

Es importante subrayar que los grupos C y G han originado la enfermedad tanto a pacientes con valvulopatía preexistente como a otros sin previa alteración clínica.

Los estreptococos del grupo C son sensibles a la penicilina, algunos han publicado su resistencia al antibiótico, por lo que sugieren que al inicio del tratamiento de la endocarditis se emplee la combinación de penicilina y gentamicina mientras se obtienen los resultados de las pruebas de sensibilidad correspondientes.

Ordinariamente, los estreptococos del grupo G son extremadamente sensibles a la penicilina, pero se han detectado cepas resistentes; se publicó un trabajo en el que se demostró la resistencia a la penicilina e inclusive a la vancomicina. Ya antes se había comprobado que algunas bacterias eran menos sensibles a cloramfenicol y vancomicina; esto tiene gran importancia, porque la vancomicina es el fármaco de elección cuando el paciente es alérgico a la penicilina.

SEPTICEMIA NEONATAL. Los estreptococos del grupo G, como se mencionó anteriormente, comprenden una especie productora de colonias "grandes" (Streptococcus canis) y otra de tipo "diminuto" (Streptococcus anrinosus), ambas aparecen

frecuentemente en la flora habitual de garganta, piel, tracto gastrointestinal y tracto genital femenino, por este último habitat, no resulta sorprendente que se encuentre causando enfermedad en el neonato.

En la literatura, únicamente existe publicado un caso de septicemia neonatal debida a estreptococos del grupo C, en el cual el paciente desarrolló también meningitis; se trataba de un niño de 14 días de nacido con un peso de 3.180 gramos, a quien no se le pudo establecer la fuente de infección (37,41). En 1974 se reportó en un infante esta enfermedad, fue posible establecer como fuente de infección a la madre, porque por medio del cultivo vaginal, se detectó a la misma bacteria, que se identificó como estreptococo beta hemolítico del grupo G productor de colonia "diminuta" (Streptococcus anginosus) (5,37).

FARINGOAMIGDALITIS. En relación a los estreptococos beta hemolíticos de los grupos C y G, existen algunos reportes que los mencionan como causantes de faringoamigdalitis, uno de ellos se refiere al estudio sobre enfermedades respiratorias que se realizó en E.U.A. durante el período de 1958 a 1969 y que incluyó afecciones de las vías respiratorias altas y bajas (faringoamigdalitis, bronquitis y neumonía) (33,37); en esta investigación, los estreptococos beta hemolíticos se aislaron de la faringe en el 7.1% de los adultos y en el 9.3% de los niños de la población considerada. En dos terceras partes de los cultivos correspondientes a los adultos, desarrollaron los estreptococos de los grupos B, C y G y sólo en el tercio

restante se manifestó el grupo A, en los niños se presentó la misma distribución pero en forma inversa. Por lo que respecta a los grupos C y G que ocasionan faringitis, hasta el momento no se puede establecer una asociación entre ellos y la fiebre reumática, a pesar de que los síndromes que se observan en las epidemias se relacionan con la incidencia de esta afección. Por otro lado, en la glomerulonefritis, sólo en un brote de faringitis se le señala como secuela de infección faríngea originada por estreptococos del grupo C (Streptococcus zooepidemicus) (18,37).

Cabe señalar que las manifestaciones de la enfermedad faríngea, e incluso la elevación de anticuerpos antiestreptolisina O que provocan los grupos C y G son semejantes a las producidas por el grupo A; por esta razón, no sólo debe pensarse que este último grupo es el único que puede originar patologías relacionadas con títulos elevados de anticuerpos contra la estreptolisina (22).

NEUMONÍA. Es importante conocer a la neumonía que se origina en el individuo previamente sano (neumonía primaria), de la que se presenta en el paciente con una enfermedad subyacente o cualquier causa que lo predisponga a la infección (neumonía secundaria).

En relación a los casos de neumonía originados por los estreptococos del grupo C, es posible afirmar que estas bacterias son capaces de producir tanto la forma primaria como la secundaria, la primera se asocia con el contacto con animales y, la segunda, probablemente surge como consecuencia

de la endocarditis que ocasionan los miembros de este grupo. Hasta el momento sólo Streptococcus equisimilis y Streptococcus zooepidemicus se han encontrado produciendo la enfermedad. En cuanto al tratamiento, a pesar de que los estreptococos son sensibles a la penicilina, generalmente la recuperación es lenta e incluso fatal. (37,40)

ARTRITIS INFECCIOSA

Anteriormente sólo se mencionaba al grupo A, sin embargo, en los últimos años han surgido informes de casos ocasionados por otros grupos como el G, la presencia del padecimiento se relaciona con algún factor de riesgo como la terapia con corticoesteroides, enfermedades malignas o diabetes mellitus; por lo regular, la artritis es poliarticular y, como en otras picartrosis bacterianas, involucra con mayor frecuencia a la articulación de la rodilla. La respuesta que se obtiene con penicilina en el tratamiento de la enfermedad es variable, algunos pacientes se recuperan y otros, a pesar del tratamiento prolongado, requieren de varias aspiraciones de la articulación para su recuperación completa.

En relación a los estreptococos del grupo C, existen dos reportes de artritis producida por estos microorganismos, por esta causa resulta difícil efectuar un análisis que pueda describir la forma predominante de la enfermedad. Otros padecimientos causados por el estreptococo grupo C en forma esporádica son: osteomielitis, pericarditis, y los del grupo G, se han encontrado en peritonitis. Ambos grupos de microorganismos se han aislado de sepsis puerperal y de

infecciones de heridas, piel y tracto genitourinario, en pacientes inmunocomprometidos; el estreptococo del grupo C puede causar septicemia y el del grupo G, meningitis y otitis media (7,37).

CONCLUSIONES

1.- La clasificación de los estreptococos por Brown en 1919 se basó primero en reacciones hemolíticas producidas en agar sangre de carnero llamándolas alfa, beta y gamma.

La clasificación serológica del estreptococo se realiza con la extracción e identificación del carbohidrato específico de grupo que proporcionó Rebeca Lancefield, con base en la diferencias serológicas de los polisacáridos C de los carbohidratos presentes en la pared celular.

2.- Los estreptococos beta hemolíticos son microorganismos que forman parte del grupo de bacterias piógenas que atacan al ser humano, por ser éste uno de los organismos más susceptibles a las enfermedades estreptocócicas, como por ejemplo: faringitis, escarlatina, impétigo y endocarditis, aunque también puede infectar traumatismos, heridas quirúrgicas y heridas por quemaduras.

3.- Dentro de los estreptococos beta hemolíticos, el grupo A de Lancefield o sea Streptococcus pyogenes, es el responsable de la mayor parte de los padecimientos.

4.- Además de las enfermedades supurativas estreptocócicas, Streptococcus pyogenes son los responsables de las importantes secuelas post-estreptocócicas como la fiebre reumática aguda, cardiopatía reumática y glomerulonefritis hemorrágica aguda.

5.- La identificación del grupo A es usando la técnica de susceptibilidad a la bacitracina pero la desventaja es que se presentan en un porcentaje importante, reacciones falsas tanto positivas como negativas, por lo que es deseable se emplee

algún otro método.

6.- Estreptococo grupo B forma parte de la flora habitual y se aísla con frecuencia variable de vagina, recto, uretra y faringe de adultos sanos, y del canal auditivo, fosas nasales, faringe y ombligo de neonatos.

7.- El reconocimiento de este microorganismo en vagina de mujeres embarazadas, es de vital importancia en la prevención de las enfermedades neonatales.

8.- En el laboratorio, una combinación de pruebas bioquímicas permite la identificación presuntiva de una colonia probablemente de estreptococo grupo B. Son necesarios el uso de medios selectivos y técnicas serológicas para identificar definitivamente al microorganismo.

9.- Los grupos C y G de Lancefield se encuentran como flora habitual en el humano; sin embargo, como pueden causar varios padecimientos, tanto el clínico como el microbiólogo deben estar conscientes de su patogenicidad.

10.- Los estreptococos de los grupos C y G son agentes etiológicos de faringoamigdalitis, la cual no se puede distinguir, en cuanto a síntomas y signos, de la producida por el grupo A. También pueden ser responsables de endocarditis, septicemia neonatal y meningitis.

11.- En la neumonía por ambos grupos, sólo se reporta al grupo C como agente etiológico; en cambio los del grupo G últimamente se han detectado como agente causal de artritis infecciosa, teniendo las características presentes en las demás pioartrosis bacteriana.

12.- En la identificación de laboratorio de los grupos C y G se parte de la siembra en agar-sangre tomando colonias aisladas, después se harán las pruebas serológicas y, por último se efectuarán las pruebas de fermentación de azúcares para determinar la especie.

13.- La reacción de coagulación es, sin duda, muy útil para identificar - con una gran especificidad - a los estreptococos de varios grupos de Lancefield entre ellos el A, B, C y G. En esta prueba el fragmento Fc de casi cualquier anticuerpo se fija a la proteína A de Staphylococcus aureus; de este modo los estafilococos con un anticuerpo conocido adherido, se aglutinan cuando se mezclan con el antígeno específico.

14.- El método definitivamente específico y exacto para la identificación de los estreptococos beta hemolíticos y, en general de todos los estreptococos - excepto Streptococcus pneumoniae - consiste en cultivar colonias puras extrayendo posteriormente el carbohidrato específico de grupo y demostrándolo por medio de una reacción serológica de precipitación entre este antígeno extraído y el suero específico de grupo (Reacción de Lancefield).

15.- Para el diagnóstico de la faringoamigdalitis - el padecimiento más frecuente y del que derivan los demás - la técnica empleada en la toma de muestra de la garganta con hisopo estéril, es tan importante en el aislamiento de los estreptococos, como el cultivo de las muestras obtenidas, ya que de no hacerse de la manera adecuada habrá contaminación de

las mismas y resultados erróneos.

16.- En cuanto a la prueba muy solicitada de la titulación de las antiestreptolisinas O séricas, se ha visto que también durante las enfermedades causadas por los grupos C y G se elevan, por lo que no sólo se debe asociar este fenómeno con las enfermedades debidas a Streptococcus pyogenes.

BIBLIOGRAFIA

1. Ancona R. J., Ferrieri P. and Williams P. P. "Maternal factors that enhance the acquisition of Group B Streptococci by newborn infants". J. Med Microbiol. 13: 273,280, (1980).
2. Baker C. J., Clark D.J. and Barrett F.F. "Selective broth medium ofr isolation of Group B Streptococci" Appl. Microbiol. 26: 884-885, (1973).
3. Baker C. J. "Summary of the workshop on perinatal infections due to Group B Streptococcus". J. Inf. Dis. 136: 137-152, (1977).
4. Baker C. J. and Kasper D. L. "Correlation of material antibody deficiency with susceptibility to neonatal Group B Streptococcal infection". New Eng. J. Med. 294: 753-756,(1976).
5. Baker C. J. "Unusual occurrence of neonatal septicemia due to Group Streptococcus". Pediatrics. 53: 568.570. (1983).
6. Balows A., Hawsler W.J; Herrman K.L.; Isenberg H.D; Shadomy H. J.
MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY.
American Society for Microbiology.
Fifth Edition. 238-248. (1991).
7. Blair D. C. and Martin D. B. "Beta hemolytic streptococcal endocarditis: predominance of non-group A organisms". Am. J. Med. Sci. 276: 269.277. (1978).

ESTE TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

8. Beeson P. B., Mc Dermott. and Wyngaarden J. B.
TRATADO DE MEDICINA INTERNA.
15 ava. Ed., Vol. 1
Nueva Editorial Interamericana. México, (1983).
9. Cole, R. N., and Holm J. J. "Cell wall replication in Streptococcus pyogenes". Science 135: 79, (1962).
10. Compen de L. R., Nuñovero G. "Corea de Sydenham". Bol Med. Hosp. Inf. Méx. Vol 39, No. 6:439-443 (1982).
11. Curtis S. N. and Krause R. M. "Immunochemical studies on the specific carbohydrate of Group Streptococci". J. Exp. Med. 119: 997-1004. (1964).
12. Dajani A. S., Chariman A, Bizno L., Chung K. J., Durack D. T., Herberg M. A., Kaplan E. L., Willard D. and Martin F. R. "Prevention of rheumatic fever: A statement for health profesionales by the Comitee on Rheumatic fever, Endocarditis and Kawasaki Disease of the Council on Cardiovascular Disease in the young". Ped. Infect. Dis. J. 8 (5): 263-266 (1989).
13. Dajani A. S. "Commentary: rheumatic fever prevention revised" Ped. Infec. Dis. J. B (5): 266-267 (1989)
14. Davis B. D., Dulbecco R.; Einsen H. N; and Ginsberg H.
MICROBIOLOGY.
Fourth Edition.
J.B. Lippincott Company.
Pennsylvania. (1990).

15. Deibel R. H. and Seeley H. W.
BERGEYS MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY.
8 Th. Ed., Williams and Wilkins. Co
USA. (1974).
16. De la Rosa M., Perez M., Carazo C., Pareja L., Peis J.
I., Hernández F. "New Granada Medium for detection and
Identification of Group B Streptococci". J. Clin.
Microbiol. 30/4:1019-1021(1992).
17. Dillon H. C., Pass M. A. and Buchanam B. "Modified method
for serological identification of Group B Streptococci".
J. Clin. Microbiol. 7: 599-600, (1978).
18. Duca E., Teodorovici G., Radu C., Vita A., Talasman-
niculescu P., Bernescu E., Fedi C. and Rosca V. "New
nephritogenic Streptococcus" J. Hyg. 67:691-698. (1969).
19. Facklam R. and Wilkinson H. W. "The prokariotes, a
handbook of habitants isolation and identification of
bacteria". Starr M. 27: 1572-1594. (1989).
20. Ferrieri P., Wannamaker L. W. and Nelson J. "Biochemical
and immunological characterization of the extracellular
nucleases of Group B Streptococcus". J. Exp. Med. 151:
56-58, (1980).
21. García T.F., Drago E. "Demostración de antígenos en
productos biológicos por coaglutinación de estafilococos
que contienen proteína A". Bol. Med. Hosp. Inf. Mex. V-39
No. 5. 321-326. (1982).

22. Gerber A. M. Caparas L. and Randolph M. F. "Evaluation of a new latex agglutination test for detection of streptolysin o antibodies". J. of Clin. Microbiol. 28/3:413-415. (1990).
23. Gerber A.M; Randolph M.F; and Demeo K. "Liposome immunoassay for identification of group a streptococci directly from throat swabs". J of Clin. Microbiol. 26/6:1463-1464. (1990).
24. González J. R. G.
"Importancia de la fiebre reumática y concordancia con los datos de laboratorio".
Tesis, Facultad de Química. U.N.A.M.
México, D. F. (1977).
25. Hagan and Bruner's
INFECTIOUS DISEASES OF DOMESTIC ANIMALS .
Seventh edition. (1981).
26. Jawetz E., Melnick J. L. and Adelberg E. A.
MICROBIOLOGIA MEDICA.
Quinta edición.
El manual moderno.
México, (1973).
27. Jelinkova J. "Group B Streptococcus in the human population". Curr. Top. Microbiol. Immunol. 76: 127-165, (1977).

28. Koneman E. W., Allen S. D., Dowell V. R. and Sommers H. M.
DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO. TEXTO Y ATLAS EN COLOR.
Editorial Médica Panamericana.
Argentina (1983).
29. Lancefield R. C. and Freimer E. H. "Type-specific polysaccharide antigens of Group B Streptococci".
J. Hyg. Comb. 64: 191-202. (1966).
30. Leshner R. J. and Casiano Colon A. E. "Comparison of Fluorescent antibody, bacitracin susceptibility, latex agglutination, coagglutination and API 20 for identifying Group A Streptococci". Can J. Microbiol. 31: 335-338. (1985)
31. Manual Bioxón "Medios de cultivo".
32. Mason E. O., Wung P. and Barret F. F. "Evaluation of four methods for detection of Group B streptococcal colonization". J. Clin. Microbiol. 4: 429-431. (1976).
33. Mogabgab W. J. "Beta-hemolytic streptococcal and cocurrent infections in adults and children with respiratory disease, 1958-1969". Am Re. Respir. Dis. 102: 23-24, (1970).
34. Nava P. M. de S.
"Colonización, patogenia e identificación de estreptococo grupo B.
Trabajo monográfico de actualización, Facultad de Química. U.N.A.M.
Mex. (1983).

35. Patterson M. J. and Hafeez A. B. Group B Streptococci in human disease". Bacteriol Rev. 40: 774-792, (1976).
36. Pliego C. A.
"Propiedades biológicas estructurales del Estreptococo grupo A.
Tesis, Facultad de Química, U.N.A.M.
Mex. (1978).
37. Ruiz P. M. S.
"Enfermedades producidas por los estreptococos de los grupos C y G de Lancefield y su diagnóstico en el laboratorio.
Tesis, Facultad de Química, U.N.A.M.
Mex. (1986).
38. Sacklam R. R.
MANUAL DE PROCEDIMIENTOS, AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE ESTREPTOCOCOS. SECCIÓN DE ESTAFILOCOCOS Y ESTREPTOCOCOS .
Centro para el control de la enfermedad.
Atlanta Georgia, (1978).
39. Soriano G. F., Elola-Olasco A., Gómez Garcés G. L., Ponte Miramontes M. C. y Ales Reinlen J. M.
"Streptococcus agalactiae (Streptococcus grupo B): Aspectos clínicos y bacteriológicos". Rv. Clín. Es. 146: 217-220, (1977).
40. Stamm A. M. and Cobbs C. G. "Group C streptococcal pneumonia: Report of a fatal case an review of the literature". Rev. Infect. Dis. 2 (6): 889-898. (1980).

41. Stewardson-Krieger P. and Gotoff S. P. "Neonatal meningitis due to group C beta hemolytic Streptococcus". J. Pediatr. 90 (1): 103-104. (1977).
42. Topley W., Wilson G.S.
PRINCIPLES OF BACTERIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNITY
6Th. Ed., Vol. 1.
Williams and Wilkins Co. Baltimore. (1975).
43. Vázquez A. L. I. y Mendieta R. R.
"Detección de portadores faríngeos de Streptococcus pneumoniae y Streptococcus pyogenes.
Tesis, Facultad de Química, U.N.A.M.
Mex. (1991).
44. Webb B.J. and Baker C.J. "Commercial latex agglutination test for rapid diagnosis of group B streptococcal infection in infants". J. Clin. Microbiol. 12(3):442-444. (1980).
45. Wetkowski M.A., Peterson E.M. and De la Maza L.M. "Direct testing of blood culture for detection of streptococcal antigens". J. Clin. Microbiol. 16(1):86-91. (1982).
46. Wilkinson H.W., Facklam R.R. and Wortham E.C.
"Distribution by serological type of group B Streptococci isolated from a variety of clinical material over a five year period (with special reference to neonatal sepsis and meningitis)". Infect. Immunity 8:228-235. (1973).

47. Zinsser.

Joklik K.W.; Willett P.H.; Anos B.D.

Microbiología .

17ava. Edición.

Editorial Médica Panamericana.

Argentina (1983).