



# Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

## COLONIZACION, PATOGENIA E IDENTIFICACION DE ESTREPTOCOCO Grupo B.

### Trabajo Monografico

Que para obtener el Título de:

**Quimico Farmaceutico Biologo**

P r e s e n t a :

**María del Socorro Nava Pérez**



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 esta 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

### INTRODUCCION.

#### CAPITULO I.- GENERALIDADES.

- 1.- Antecedentes e historia.
- 2.- Taxonomía y nomenclatura.

#### CAPITULO II.- ESTREPTOCOCCO DE GRUPO B.

- 1.- Composición química.
- 2.- Características fisiológicas.
  - A.- Enzimas
    - a.- Hemolisinas.
    - b.- Desoxirribonucleasas.
    - c.- Hialuronidasa.
    - d.- Hipuricasa.
  - B.- Factores de virulencia.
  - C.- Producción de pigmento.
  - D.- Bacteriocinas.
  - E.- Bacteriófagos.
- 3.- Componentes antigénicos de utilidad para su clasificación.
- 4.- Requerimientos nutricionales y diagnóstico de laboratorio.
  - A.- Aislamiento.
  - B.- Identificación
    - a.- Microbiológica.
    - b.- Inmunológica.
      - b.1: Serotipificación.
      - b.2: Coagulación.
      - b.3: Inmunofluorescencia.
      - b.4: Inmunolectroforesis.
      - b.5: Contraimunolectroforesis.

#### CAPITULO III.- HALLAZGOS CLINICOS.

- 1.- Ocurrencia en humanos.
  - A.- Incidencia.
  - B.- Factores que influyen en su persistencia.
    - a.- Raza.
    - b.- Edad.
    - c.- Sexo.
    - d.- Otros factores.
- 2.- Importancia de su presencia en adultos.
  - A.- Reservorios.
- 3.- Importancia de su presencia en embarazadas.

- 4.- Importancia en el recién nacido.
  - A.- Sepsis neonatal.
  - B.- Meningitis.
  - C.- Síndrome respiratorio (neumonia, empíena).
  - D.- Otras (impétigo, onfalitis, -artritis séptica, osteomielitis, conjuntivitis purulenta, lesiones semejantes al eritema nodoso).
- 5.- Ocurrencia en animales.
- 6.- Cepas de origen humano y bovino.

CAPITULO IV.- INHUNIDAD.

CAPITULO V.- TRATAMIENTO.

CAPITULO VI.- CONCLUSIONES.

ANEXOS: MEDIOS DE CULTIVO.  
TECNICAS.

CAPITULO VII.- BIBLIOGRAFIA.

## INTRODUCCION

Streptococcus agalactiae posee un indudable poder patógeno en ciertos animales, especialmente ganado vacuno, en el que produce mastitis, de gran importancia por la repercusión clínica y económica que ocasiona en el ámbito de la veterinaria.

En 1933, la Dra. Rebecca C. Lancefield describe un esquema de clasificación basado en la presencia de carbohidratos específicos contenidos en la pared celular de los estreptococos. Las cepas que ella clasificó como Estreptococos de grupo B, fueron aisladas originalmente de bovinos y de productos lácteos, quedando así S. agalactiae comprendido dentro de este grupo.

Estudios esporádicos posteriores, mostraron la presencia de este microorganismo en cultivos vaginales de postparturientas sanas. Actualmente, el poder patógeno de los estreptococos de este grupo, para el hombre, está siendo discutido; hasta hace poco se les consideraba como posibles saprófitos, generalmente no patógenos y solo ocasionalmente productores de determinadas enfermedades como septicemias puerperales, endocarditis, padecimientos urinarios, muchas de ellas producidas en enfermos con un estado defensivo debilitado. Hoy en día se tiene conocimiento de que existe un aumento real en su frecuencia, produciendo cuadros clínicos graves de septicemia y meningitis en infantes, habiéndose convertido en una grave amenaza para el recién nacido.

Al realizar este trabajo se intenta exponer el conocimiento que actualmente se tiene de este microorganismo a través de diversos autores, conocimiento enfocado a tratar de entender el comportamiento de esta bacteria, principalmente su patogenia cambiante considerando distintos aspectos: morfológicos, bioquímicos, estructurales y clínicos. Se ha considerado de especial importancia el reportar y comparar los distintos métodos de identificación, tratando de-

encontrar el método más rápido y a su vez adecuado y preciso, dada la naturaleza fulminante de las infecciones septicémicas neonatales.

Por último, exponer algunas interrogantes que — surgen como consecuencia lógica de una investigación que — recién empieza.

## CAPITULO I

### GENERALIDADES.

#### ANTECEDENTES E HISTORIA.

Billroth, en 1874, describió por primera vez unos microorganismos esféricos que crecían formando cadenas a partir de exudados purulentos. Más tarde demostró la existencia de organismos similares, ya denominados estreptococos, en la sangre de una mujer con fiebre puerperal grave. Poco después fueron aislados a partir de enfermos con escarlatina y, en 1882, Fehleisen provocó erisipelas típicas en voluntarios humanos con cultivos puros de estreptococos obtenidos a partir de lesiones purulentas de pacientes afectados con esta enfermedad. 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. Sin embargo, a partir de enfermos humanos y de animales, pueden cultivarse diferentes tipos de estreptococos. (51).

#### TAXONOMIA Y NOMENCLATURA.

El nombre genérico de estreptococos fue primeramente utilizado en 1884 por Rosenbach. Originalmente se les incluyó dentro de la Familia Lactobacillaceae, tribu Streptococcaceae, Género Streptococcus. Actualmente el Género Streptococcus representa a la familia II Streptococceae de cocos Gram positivos (30,95). Este método clasifica a las bacterias según sus características fenotípicas. En los últimos años, la aparición de la genética molecular ha producido una verdadera revolución en este campo, al permitir una definición de las relaciones biológicas, basadas en datos precisos y cuantitativos. El estudio químico del DNA, permite, en la actualidad, determinar de forma directa el grado de relación existente entre dos especies, a través de la composición de bases de los ácidos nucleicos y también -

mediante técnicas de hibridación. Así pues, aunque la composición de bases del DNA es básicamente la misma en todos los vertebrados (alrededor de 40 moles% de guanina + citosina y 60% de adenina + timina), en las bacterias varía considerablemente, oscilando entre 30 y 70 moles % de GC.

La homología del DNA constituye, en este momento, la base más fidedigna para establecer una taxonomía bacteriana que, probablemente, va a sufrir un desarrollo extraordinariamente rápido (51).

Actualmente no existe un criterio unánime en la clasificación del género, no obstante que casi todos los autores que se han ocupado del problema se basan en metodologías más o menos similares para la diferenciación de las especies, que incluyen el estudio de los caracteres fisiológicos y bioquímicos, tales como la producción de hemolisinas, fibrinolisinias, crecimiento a diferentes temperaturas, tolerancia a colorantes, concentraciones elevadas de sales, bilis, pH, hidrólisis de diferentes productos (gelatina, almidón, hipurato, esculina, arginina) y composición antigénica por lo que se refiere a la sustancia grupo-específica C. Las pruebas de utilización de azúcares, antes tan empleadas, tienen un valor relativo en la subdivisión del género, aunque siguen conservando importancia para la diferenciación de determinadas especies (2).

Brown, en 1919, introduce los términos alfa, beta y gamma para describir los tres tipos de reacción hemolítica observados en placas de agar sangre (51). En 1937, Sherman propone una clasificación que comprende cuatro grupos: piógeno, enterococo, láctico y viridans, basada en el hábitat y la resistencia a agentes físico-químicos (2,82). A partir de los trabajos de Lancefield, en los primeros años de la década de 1930, los estreptococos fueron diferenciados en grupos inmunológicos: la mayoría de estos microorganismos poseen un carbohidrato dominante, serológicamente activo denominado --sustancia "C", el cual es inmunológicamente diferente en ca-

-da una de las especies. Actualmente se han identificado 18 grupos designados de la letra A a la H y de la K a la T. El carbohidrato específico en el que se basa la clasificación de Lancefield está localizado en la pared celular en el caso de los grupos A, B, C, E, F, G, H y K, mientras que en los grupos D y N, estos antígenos son ácidos teicoicos que se encuentran entre la pared y la membrana celular (51,82,169).

La familia Streptococcaceae, Género Streptococcus comprende numerosas especies de interés médico; algunas forman parte de la flora comensal de la oro-faringe y del intestino, mientras que otras pueden actuar como patógenos primarios produciendo enfermedades transmisibles en el ser humano y en animales (2).

## CAPITULO II

### ESTREPTOCOCO DE GRUPO B.

La primera cepa que por sus características correspondía a S. agalactiae, fué aislada por Nocard y Molle reau en 1887, de un caso de mastitis bovina. Originalmente se le dió el nombre de S. nocardii, designándosele después con una serie de sinónimos: S. mastitis contagiosae, S. mastitis sporadicae, S. agalactiae contagiosae, S. mastiditis. La designación de S. agalactiae fué propuesta en el 40. Congreso Internacional de Microbiología, por Brown, quien además propuso subdividir las especies bovinas en tres variedades: agalactiae, mastiditis y asalignus, basándose en estas características: S. agalactiae var. agalactiae para aquellas que no produjeran hemólisis franca, S. agalactiae var. mastiditis en las que se observara una hemólisis total y S. agalactiae var. asalignus para las cepas que, a diferencia de las otras dos, no fermentaran la salicina. Todas las especies correspondientes a S. agalactiae se clasifican dentro del grupo B de Lancefield. (95)

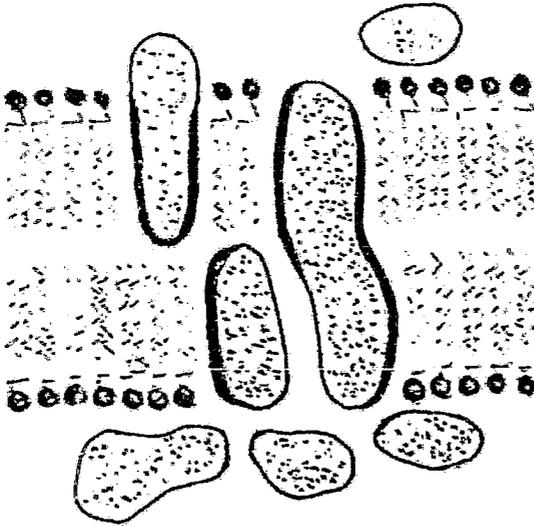
#### COMPOSICION QUIMICA.

Los cortes de células Gram positivas presentan una cubierta externa gruesa y densa que rodea a la membrana citoplásmica o membrana plasmática. Los cortes transversales de la membrana presentan el clásico aspecto trilaminar que caracteriza a las membranas biológicas en las que los grupos cargados se sitúan en ambas superficies y se tiñen, mientras que la banda intermedia, formada por lípidos, presenta un aspecto claro.

La membrana citoplásmica puede ser fácilmente aislada en forma de fragmentos después de la lisis osmótica de los protoplastos. Este material está formado en gran parte por lípidos y proteínas.

La pared celular ha sido identificada desde el-

punto de vista químico formada por peptidoglicano (llamado también glucopéptido, mucopéptido o mureína), en algunos se detectan cadenas accesorias de ácidos telcoicos que se hallan unidas en forma covalente a la superficie externa de la célula. La membrana citoplásmica constituye una barrera osmótica que es atravesada intermitentemente por sistemas específicos de transporte; esta barrera es extraordinariamente efectiva para retener metabolitos y evitar la entrada de compuestos procedentes del exterior y está formada por fosfolípidos que son sustancias que poseen una región polar hidrófila y largas cadenas lipídicas hidrofóbicas, estas sustancias, cuando se encuentran dispersas en solución acuosa, tienden a agregarse formando una delgada capa bimolecular perfectamente orientada (51).



#### ESQUEMA DE LA ESTRUCTURA DE LA MEMBRANA

Las líneas en zigzag corresponden a las cadenas de ácidos grasos, mientras que los círculos negros representan los grupos polares de los fosfolípidos. Los cuerpos sombreados son proteínas, con un reborde grueso que corresponde a la región que contiene las cadenas laterales más hidrofóbicas. Ciertas proteínas atraviesan completamente la membrana, -- mientras que otras se hallan incluídas en ella exponiendo su región hidrófila tan solo en una de sus superficies. No se sabe con seguridad si las proteínas pueden hallarse unidas tan solo a la superficie hidrófila, tal como se presenta en esta figura (51).

La composición química del *Estreptococo* de grupo B, se encamina principalmente a conocer la constitución de los polisacáridos específicos, los cuales, y 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 interna 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 dis -- tintos tipos (95).

Los polisacáridos de este grupo han sido anali -- zados por diferentes autores, utilizando para ello diferen -- tes técnicas de extracción. El carbohidrato específico de -- grupo se ha aislado de la pared celular de microorganismos que han perdido su cápsula a través de cultivos seriados, -- su constitución química es similar a la de otros estrepto -- cocos identificándose como principales componentes: ranno -- sa, N-acetil glucosamina y galactosa. Es un carbohidrato -- soluble en el que la sustancia antigénica determinante es -- un monosacárido, la L-ranosa (104).

Inicialmente Lancefield distinguió tres grupos -- serológicamente distintos: I, II y III basándose en el po -- lisacárido capsular. Su esquema fué ampliado posteriormen -- te a 4 tipos: Ia, Ib, II y III. La especificidad de los po -- lisacáridos ha sido comprobada induciendo la formación de -- anticuerpos protectores. Los tipos Ia y Ib muestran una re -- lación antigénica basada en la presencia de un polisacári -- do menor, común a las cepas de tipo I, este componente an -- tigénico (Iabc) puede causar reacciones cruzadas (164).

A estos serotipos se han agregado después los an -- tígenos proteicos R y X, los cuales tienen significado es -- pecialmente en cepas bovinas. El antígeno R de este micro -- organismo está íntimamente relacionado con el antígeno R -- del *Estreptococo* de grupo A. El antígeno X probablemente --

forme parte de la estructura del antígeno R, aunque serológicamente es claramente diferenciable del R (95).

Los métodos clásicos de extracción para los polisacáridos en este grupo han sido:

1.- Con HCl en caliente: 10 g. de bacterias liofilizadas - se suspenden en 100 ml de HCl (pH 2), se someten a una temperatura de 96°C por 10 minutos, agitando continuamente.

Dos extracciones adicionales de los residuos bacterianos, - resultan en un material con mayor actividad serológica.

2.- Acido tricloroacético en frío: 12 g del mismo material bacteriano se suspenden en 125 ml de TCA al 2.5% y pH 2. La extracción se lleva a cabo a una temperatura justo encima - del punto de congelación, en un desintegrador Braun.

Las preparaciones anteriores contienen tanto los carbohidratos grupo-específicos, como los tipo-específicos. El carbohidrato de grupo puede eliminarse de ambas preparaciones utilizando métodos de precipitación fraccionaria con etanol o con técnicas cromatográficas de intercambio iónico (12,104).

Los antígenos obtenidos en la extracción con HCl, son sustancias de bajo peso molecular que contienen varias cantidades de glucosa, galactosa y glucosamina. El tratamiento con TCA da por resultado un análisis más completo de la composición química, detectándose con esta técnica una sustancia antigénica adicional, ácido lábil, el ácido silícico. Últimamente se ha utilizado para la extracción de los antígenos del tipo III una solución amortiguadora compuesta por  $\text{Na}_2\text{PO}_4$  0.05N, NaCl 0.15 M y etilén diamino tetraacetato disódico 0.01 M. Con este método es detectable también el ácido silícico (11).

COMPOSICION QUIMICA DEL POLISACARIDO DE GRUPO (75):

	%
Galactosa	8.9
Glucosa	<1.0
Glucosamina	12.3
Ramposa	50.2
Acido silícico	---

COMPOSICION QUIMICA DE LOS CARBOHIDRATOS TIPO ANTIGENICOS<sup>(a)</sup>

Componente	% de antígeno			
	Ia <sup>(b)</sup>	Ib <sup>(b)</sup>	II <sup>(c)</sup>	III <sup>(d)</sup>
Galactosa	71.0	60.0	34.0	38.9
Glucosamina	25.4	24.0	14.7	22.8
Glucosa	0	0	27.2	17.8
Acido urónico	0	0	-	3.1
Acido siálico	0	0	-	24.0 <sup>(e)</sup>
Grupo inmuno-dominante.	N-acetil glucosamina.	Glucosamina (no acetilada).	D-Galactopiranosido.	Acido glucurónico.

(a): Extracción con ácido clorhídrico.

(b): Según Wilkinson (163).

(c): Según Freimer (75).

(d): Según Russell y Norcross (135).

(e): Según Baker y Kasper (12); extracción con solución amortiguadora.

CARACTERISTICAS FISIOLOGICAS Y BIOQUIMICAS

S. 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 hemólisis completa, 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. La leche tornasolada incubada a 37°C se acidifica y coagula dentro de las 48 horas siguientes, observándose una ligera decoloración en el fondo de los tubos. A 10°C, no presenta crecimiento en 5 días, no reduce el azul de metileno y el pH final que confiere al caldo glucosado es de 4.4-4.7. Hidroliza el hipurato de sodio; la glucosa, lactosa, sacarosa y maltosa, son regularmente fermentadas, al igual que la salicina,

no muestra reacción con la inulina, manitol y rafinosa, no hidroliza la esculina ni la gelatina. Algunas cepas de S.-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 (82). Los microorganismos son resistentes al calor, a la desecación y parcialmente a los desinfectantes, - aunque son fácilmente destruidos por pasteurización.

Las características más importantes para el diagnóstico diferencial de otras cepas hemolíticas pertenecientes a este género son las siguientes (95):

Hidrólisis del hipurato de sodio	+
Hidrólisis de la esculina	-
pH final de los cultivos	4.2-4.5

Crecimiento en caldo-NaCl 4%:

en caldo a pH 9.6	-
a 10°C	-
a 45°C	-
en agar-bilis 40%	+(-)
en leche azul de metileno 0.1%	-(+)

Resistencia a 60°C por 30 min

-

Licuefacción de gelatina

-

Hidrólisis del almidón

-

Producción de ácido a partir de:

glucosa	+
maltosa	+
sacarosa	+
lactosa	variable
salicina	+(-)
trihalosa	+
xilosa	-
arabinosa	-
rafinosa	-
inulina	-
manitol	-

sorbitol

glicerol

+(aerobiosis)

## ENZIMAS.

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

**HEMOLISINAS.**- *Streptococo* de grupo B muestra en promedio una baja actividad hemolítica con distintos grados de manifestación, dependiendo esto principalmente de la composición del medio, la calidad de la peptona, tipo de sangre, contenido en carbohidratos y la tensión de oxígeno. Algunas cepas producen hemólisis solo bajo condiciones de anaerobiosis. Esta actividad hemolítica es producida por una hemolisina soluble, distinta de las hemolisinas S y O de *Streptococo* 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, una zona central de hemólisis total y una periférica de hemólisis parcial; esta manifestación se observa cuando el medio utilizado es agar infusión corazón y sangre de carnero, en condiciones de aerobiosis; esta característica hemolítica se ha atribuido a la producción de peróxido, y que al incorporar catalasa al medio, se anula esta doble zona y se observa solamente hemólisis completa (95).

Otra manifestación hemolítica de gran interés, es la capacidad que muestra una sustancia extracelular del *Streptococo* grupo B, la cual sensibiliza los glóbulos rojos de carnero a la acción de la beta-hemolisina estafilocócica, dando como resultado una hemólisis completa. Este fenómeno es aprovechado para una prueba de valor diagnóstico conocida como prueba de CAMP (32,50,55,77,95,103,165), la cual es ampliamente utilizada como método selectivo para la identificación de este microorganismo.

Este producto extracelular, responsable de la reacción de CAMP, ha sido aislado y purificado, sus característi

-cas y propiedades difieren dependiendo de la cepa de la cual se aisle. Se le describe como una proteína de P.M. -- 15,000 a 33,000 y pH aproximado de 8.3.

Se han estudiado también las propiedades antigénicas, fermentativas y fisiológicas de cepas no hemolíticas aisladas ocasionalmente de humanos y de algunos animales como peces y vacas (162).

**DESOXIRIBONUCLEASA.**- La producción de esta enzima ha sido detectada en un alto porcentaje de cepas de S. agalactiae en todos sus tipos. Se han identificado tres diferentes nucleasas designadas como I, II y III, aún cuando presentan diferentes propiedades bioquímicas y físicas, las nucleasas II y III son antigénicamente similares, pero distintas a la nucleasa I, y todas son inmunológicamente diferentes de las nucleasas producidas por el Estreptococo de grupo A. Se ha detectado en el suero humano, principalmente en el de embarazadas colonizadas por Estreptococo grupo B y sus productos, una actividad neutralizante hacia estas nucleasas, probablemente debida a la formación de anticuerpos (70,95).

**HYALURONIDASA.**- Esta enzima ha sido investigada en los distintos tipos de estreptococos hemolíticos aislados en humanos. Estreptococo grupo B es uno de los que la producen en un alto porcentaje. Las cepas bovinas la producen a bajos niveles y se ha estudiado su relación con la morfología de las colonias, pero se ha visto que aún las colonias rugosas, formadas por microorganismos avirulentos, producen hialuronidasa, lo que hace presuponer que esta enzima no está relacionada con la virulencia, sin embargo, no se han encontrado estudios recientes y la función de estas enzimas en patógenesis es oscura (95,127).

**HIPURICASA.**- Desde hace tiempo se conoce la capacidad que tiene Estreptococo de grupo B para hidrolizar el ácido hipúrico, dando como productos resultantes ácido benzoico y glicina. Antes de que se desarrollaran las técnicas de serotipificación, esta propiedad permitía a los investigadores diferenciar S. agalactiae de otros estreptococos beta-hemolí-

-ticos. Poco se conoce de esta reacción enzimática característica de cepas de *Streptococo* grupo B tanto humanas como bovinas, al principio activo responsable de este desdoblamiento del ácido hipúrico se le ha llamado hipuricasa y aún no se ha podido aislar en forma químicamente pura, ni se han podido definir convenientemente sus características bioquímicas. Se conoce que es una enzima intracelular por el hecho de que filtrados libres de células pierden esta propiedad, mientras que si las células se someten a ruptura mecánica, los filtrados recuperan esta actividad. Las preparaciones enzimáticas de este producto suministradas a conejos, inducen a la formación de anticuerpos, yá que el suero de estos animales inhibe la acción de la hipuricasa (69).

#### FACTORES DE VIRULENCIA

En el grupo B no se observa la virulencia específica detectada por ejemplo, en *Streptococo* de grupo A, mas bien, como oportunistas que son, su patogenicidad está regularmente ligada a factores que provocan en el paciente una baja de defensas.

Contrariamente a la proteína M presente en otros grupos de estreptococos, las proteínas R y X no parecen estar relacionadas con la virulencia, ya que estas sustancias, se ha comprobado que no son capaces de inducir a la formación de anticuerpos protectores. Los serotipos Ia y III, son los más comunmente asociados con las enfermedades de neonatos y parecen localizarse con regularidad en el tracto respiratorio y en el Sistema Nervioso Central respectivamente (161). El EGB tipo III que contiene ácido sílico en su composición antigénica, parece poseer propiedades invasivas, ligadas a su predilección por las meninges de los neonatos. La presencia de este ácido bien pudiera estar relacionada con la patogenicidad de este microorganismo, ya que este ácido se ha reportado también como componente habitual del antígeno K<sub>1</sub> de cepas de *Escherichia coli*, que también muestran preferencia por las meninges de recién nacidos.

Las cepas de tipo III, han sido estudiadas con especial interés en vista de su supuesta patogenicidad hacia los recién nacidos y al mismo tiempo su escasa o nula virulencia en ratones (95,127).

La interrogante acerca de los factores de virulencia necesita ser estudiada más a fondo para poder resolver convenientemente la relación que pudiera existir entre los polisacáridos capsulares y la patogenicidad, especialmente en el hombre (95).

**PRODUCCION DE PIGMENTO.**- La producción de un pigmento café-rojizo ha podido detectarse en medios de cultivo que contienen almidón. Esta capacidad se ha utilizado como método probable de identificación de esta bacteria, no obstante, en algunas ocasiones la reacción es débil y difícil de detectar si no se utilizan los medios selectivos adecuados (95,-116).

**BACTERIOGINAS.**- La formación de bacteriocinas se debe a la presencia en la célula del bacteriocinógeno correspondiente. En este microorganismo se ha determinado la presencia de una bacteriocina con las siguientes propiedades: P.M.  $\pm$  ---- 10,000, sensible a enzimas proteolíticas (tripsina y pepsina), resistente a temperaturas de 65°C, pero sensible a --- 80°C por 20 min., pH 7.2. La bacteriocina muestra actividad hacia un 80% de las cepas de *Streptococo* grupo B y también hacia algunos enterococos. No es activa contra otras bacterias, solo muestra una actividad débil hacia *S. epidermidis*, *C. diphtheriae* y *L. monocytogenes*.

En general son débiles productoras de bacteriocinas, aunque esta capacidad es ligeramente más alta en cepas bovinas (95). Las bacteriocinas difieren de los antibióticos en que químicamente son proteínas y su espectro antimicrobiano es mucho más limitado, pero generalmente son más potentes (51).

**BACTERIOFAGOS.**- La identificación por bacteriófagos se considera de importancia, debido a que se han encontrado cepas que no han podido clasificarse utilizando el esquema de Lan

-cefield, y la tipificación por medio de fagos ha demostrado ser de utilidad en la identificación de microorganismos causantes de contaminación en hospitales, como podrían ser los estafilococos y algunas bacterias Gram negativas. Las investigaciones acerca del aislamiento de fagos y su aplicación en la tipificación de cepas, recién comienza. Stringer (149, 150) reporta el haber logrado reunir un juego de 24 fagos que se han usado ventajosamente en la detección de focos de infección en varios hospitales.

Anteriormente, un tipo de fago había sido aislado de una muestra de leche de vaca, se estudiaron sus características físico-químicas y morfológicas, mostrándose como un fago de cabeza con simetría icosaédrica, con finas es triaciones en la cola que le dan aspecto helicoidal. El fago contiene DNA de doble cordón (95).

#### COMPONENTES ANTIGENICOS DE UTILIDAD PARA SU CLASIFICACION.

La taxonomía del *Estreptococo* de grupo B, se basa en la presencia de polisacáridos capsulares. La especificidad serológica de estos antígenos ha sido establecida en base a la formación de anticuerpos protectores y técnicas de precipitación. Como se apuntó anteriormente, originalmente se distinguieron tres tipos serológicos: I, II y III, esquema que posteriormente fué ampliado a: Ia, Ib, II y III. El descubrimiento de la proteína Ic, ha venido a complicar este esquema de nomenclatura relativamente sencillo. Originalmente conocida como proteína II (intermedia), este antígeno es compartido por cepas Ia y Ib. La presencia de la proteína Ic en cepas de estos dos tipos, ha sido confirmada no solamente por técnicas de precipitación y análisis bioquímico, sino especialmente con experimentos en ratones en los que se inducen reacciones cruzadas (160).

En vista de la existencia de esta proteína, se adopta la siguiente nomenclatura provisional:

Tipo Ib = Ib CHO + proteína Ic

Tipo Ic = Ia CHO + proteína Ic

No se han reportado cepas que contengan únicamente el carbohidrato Ib, este dato sugiere la posibilidad de que la proteína Ic sea sintetizada por cepas de tipo Ib.

Este esquema resultaría razonable en el caso de que los demás tipos serológicos no compartieran la proteína Ic, es decir, los tipos II y III y las proteínas R y I, además es posible que pudieran existir excepcionalmente algunas cepas que poseyeran únicamente la proteína Ic.

Todas estas consideraciones han complicado seriamente la clasificación del Estreptococo de grupo B, y se ha presentado el problema de cómo nombrar aquellas cepas que comparten patrones antigénicos. Una tipificación rutinaria, de valor diagnóstico podría resultar de la siguiente manera:

Ia = Ia CHO

Ib = Ib CHO + proteína Ic

Ic = Ia CHO + proteína Ic

II = II CHO

II + proteína Ic

III = III CHO

III + proteína Ic

Ic = proteína Ic + CHO no tipificado

Tipo R, Tipo I y, finalmente

R+Ic y I+Ic que serían sumamente raras.

En todo caso el nuevo esquema tendría que basarse en el polisacárido antigénico complementado con los componentes de la proteína antigénica, quizá nombrada solamente con la letra "c", ya que su presencia no está restringida solamente a las cepas de tipo I, de acuerdo con esto, resultaría una clasificación como a continuación se indica: Ia, -Iac, Ib(?), Ibc, II, IIc, III, IIIc, c, R, cR, I, cI, o algo similar.

El proponer este tipo de clasificación es aún prematuro, ya que no se ha demostrado convenientemente la presencia de la proteína Ic en todas las cepas, se hace necesario el llevar a cabo estudios profundos y exhaustivos y, solamente hasta entonces, será posible realizar un cambio ofi

-cial en la clasificación y nomenclatura de los diferentes tipos del *Estreptococo* de grupo B.

Cabe mencionar para concluir esta sección, que existen cepas no tipificadas, que teóricamente insinúan la existencia de nuevos y no identificados carbohidratos antigénicos (95,166).

#### REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES Y DIAGNOSTICO 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 necesitan que éstos sean enriquecidos, complementados con aminoácidos, vitaminas del complejo B, purinas y pirimidinas, favoreciendo su crecimiento sustancias reductoras como la cisteína o el tioglicolato (119,130). Crecen con facilidad en un medio de infusión de carne que contenga sangre o suero. Para el aislamiento de los antígenos específicos y de las enzimas extracelulares, debe utilizarse un medio que contenga sólo los componentes dializables del complejo de infusión de carne peptonada, para eliminar los componentes macromoleculares que podrían confundirse con los producidos por los microorganismos. Algunos péptidos aportados por este medio, han demostrado ser esenciales para el crecimiento óptimo, pero no existe un requerimiento específico de péptidos. Todos los estreptococos son productores de ácido láctico, puesto que su energía proviene principalmente de la fermentación de los azúcares, tanto si crecen en condiciones aerobias como anaerobias. La acumulación de ácido láctico disminuye el pH del medio (51).

Los medios que son favorables y más comunmente usados para el desarrollo de estreptococos patógenos, son medios adicionados de sangre total, suero sanguíneo o trasudados con glucosa al 0.05% (130).

Aunque se han considerado varios aspectos de las infecciones producidas por *Estreptococo* de grupo B, principalmente en el aspecto clínico, han aparecido pocos repor -

-tes concernientes a sus características de crecimiento - "in vitro" y a sus requerimientos nutricionales. Niven (119) examina los requerimientos nutricionales tanto de cepas bovinas como humanas y encuentra que éstos son homogéneos en cuanto a necesidad de vitaminas y aminoácidos, esencialmente valina, leucina, isoleucina, fenil alanina, glutamato, - arginina, lisina, histidina y triptófano.

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 de estas bacterias presenta problemas para los laboratorios -- bacteriológicos en vista de que pueden encontrarse en diferentes partes del organismo, especialmente en la 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 muestras de sangre, líquido céfalo-raquídeo, pus, orina, exudado vaginal, etc. En estos casos es importante decidir el valor de la presencia de estas bacterias en la integración del diagnóstico (111).

**AISLAMIENTO.** - El aislamiento de *Estreptococo* de grupo B a partir de sangre, líquido céfalo-raquídeo y otros sitios -- normalmente estériles del cuerpo, presenta pequeñas dificultades, pero cuando se trata de aislarlo de sitios de flora mixta se hace necesario el empleo de medios selectivos si queremos conocer la frecuencia real, sobre todo de la colonización vaginal por este agente (112).

En 1973, Baker (14) describe un medio destinado a mejorar el aislamiento de EGB. Este medio utiliza como base el caldo Todd-Hewitt con sangre de carnero, adicionado de ácido nalidíxico (15 µg/ml) y sulfato de gentamicina (8 -- µg/ml). La composición de este medio fué arbitrariamente escogida para facilitar la inhibición de microorganismos que crecen normalmente en el tracto genital femenino, sin inhibir el crecimiento del estreptococo. Este medio ha resulta-

- do ser el más apropiado para la detección del microorganismo en mujeres embarazadas o en trabajo de parto, así como en neonatos con alto riesgo de enfermedad.

Posteriormente se han hecho una serie de modificaciones a este medio con el fin de mejorarlo y así obtener mejores resultados. Se puede modificar añadiendo los antimicrobianos utilizando discos impregnados, como los que habitualmente se usan en pruebas de difusión. El medio así preparado es altamente eficaz y muy sencillo de preparar en el mismo momento en que se precise (155).

Otros autores (68) suprimen del caldo Todd-Hewitt la sangre y añaden colistina y ácido nalidixico, de esta manera, la turbidez que el crecimiento del microorganismo conlleva al medio, se puede observar rápidamente.

Baker (13) observó también los efectos que se producen al aumentar las concentraciones de glucosa y de fosfatos al caldo T-H; el aumento en la capacidad amortiguadora previene la acumulación de ácido y el número de células obtenidas se incrementa considerablemente, lo cual, y en vista de la naturaleza fulminante de las enfermedades debidas a EGB, este medio proporciona "in vitro" la oportunidad de detectar los factores potenciales de virulencia, ya que proporciona condiciones de rápida proliferación, similares a aquellas que se producen "in vivo". Además, este medio facilita grandemente el aislamiento y la purificación de las sustancias antigénicas, dado que la elaboración de los componentes antigénicos son reflejo de las condiciones fisiológicas y nutricionales de la célula. Este aumento en el rendimiento se ha observado sobre todo en cepas de EGB tipo III. Aunque no se reportan rendimientos cuantitativos, se observa como promedio una doble producción de organismos viables después de 12 horas de incubación.

**IDENTIFICACION.**- La manera clásica de identificar estreptococos es, determinar primero si es o no hemolítico y posteriormente determinar a que grupo serológico pertenece, para determinar éste, se requiere de sueros específicos y usual-

-mente tarda de dos a tres días completar las pruebas, por esta razón se han desarrollado diferentes pruebas bioquímicas y técnicas serológicas directas y así obviar tiempo y lograr una rápida identificación (169).

El tipo de hemólisis producida, es un auxiliar valioso para la identificación inicial del estreptococo, aunque deben tomarse en cuenta ciertas consideraciones, ya que la reacción puede presentar variaciones hemolíticas que dependen principalmente del tipo de sangre y el tipo de agar-base utilizados. El uso de medios comercialmente preparados ha dado como resultado una estandarización gradual de las placas de agar sangre utilizadas en los laboratorios clínicos. Estos medios contienen regularmente una base de tripti-caso soya agar y 5% de sangre de carnero, que es la que presenta mas ventajas sobre las otras sangres ya que además de dar muy buenas reacciones hemolíticas, no permite el desarrollo de Haemophilus hemolyticus, cuyas colonias en otras sangres son muy semejantes a las de estreptococo beta hemolítico. Este medio es el utilizado con mayor frecuencia para el aislamiento primario, produciendo reacciones regulares y consistentes de la mayoría de los estreptococos hemolíticos (103,111).

La base de agar utilizada para las placas, debe estar libre de azúcares reductores. La acción lítica de los estreptococos es un fenómeno complejo y aún no están comprendidas todas las causas que inhiben las propiedades hemolíticas. Los azúcares reductores, como la dextrosa, fructosa, galactosa y muchas pentosas, suprimen la acción lítica de los estreptococos sobre los eritrocitos de carnero, presumiblemente al causar una baja en el pH del medio.

El peróxido de hidrógeno es otro compuesto que afecta a los eritrocitos y llega a hacerlos resistentes a la acción hemolítica de las enzimas del estreptococo. La producción de peroxidasa por el estreptococo y otras bacterias varía considerablemente con los componentes de la base de agar sangre. Esto explicaría parcialmente, la variedad -

de expresiones en la hemólisis cuando se trata de cultivos mixtos. Estas variaciones hacen que algunos autores recomienden que se incube en anaerobiosis, o sembrar las placas por vaciado cuando se trate de identificar estreptococo. (103).

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

Aunque la hemolisina del Estreptococo de grupo B 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 CO<sub>2</sub>. Las placas de agar sangre pueden sembrarse tanto por estria como por vaciado, en este último caso no es necesario incubar en atmósfera de CO<sub>2</sub>. Una práctica muy común es la inoculación superficial por estria y en seguida puncionar con el asa bacteriológica diversas áreas de la placa de agar sangre e incubar aeróbicamente (111, 112, 127).

Una vez que se ha detectado estreptococo beta hemolítico en el laboratorio, una combinación de pruebas bioquímicas permite la identificación de una colonia presumiblemente de Estreptococo de grupo B. Estas pruebas comprenden: susceptibilidad a la bacitracina: a menudo cuando la primera prueba que se lleva a cabo reconoce un estreptococo beta hemolítico en un laboratorio microbiológico. Aproximadamente 94% de los estreptococos de grupo B son resistentes a la bacitracina, cerca del 80% crecen en medios con altas concentraciones de sal. Históricamente una de las primeras pruebas utilizadas para diferenciar S. agalactiae de otros-

estreptococos, se basa en la capacidad que tiene este microorganismo para hidrolizar el hipurato de sodio, desdoblándolo en benzoato de sodio y glicina. Esta prueba se considera la más importante en la identificación de Estreptococo de grupo B y, aunque los Estreptococos de grupo D muestran en ocasiones actividad hipurítica, el 99% de estos últimos son capaces de hidrolizar la esculina en presencia de bilis, -- mientras que el grupo B, no muestra esta propiedad (127).

**HIDROLISIS DEL HIPURATO DE SODIO.** -- Como se indicó anteriormente, todos los estreptococos de grupo B hidroliza el hipurato de sodio debido a que poseen la enzima hipuricasa que desdobla el ácido hipúrico en ácido benzoico y glicina. La reacción de hidrólisis puede detectarse añadiendo al cultivo  $FeCl_3$  para identificar el ácido benzoico al formarse un precipitado insoluble, floculento, color café, de benzoato-férrico, o añadiendo ninhidrina para detectar la formación de glicina. La reacción ninhidrina-glicina permite la identificación de la hidrólisis del hipurato después de 4 horas de incubación, no así cuando se utiliza  $FeCl_3$ , reacción en la que se observan resultados después de un período de incubación de por lo menos 20 horas, además, la solución de  $FeCl_3$  debe ser titulada cada vez que se va a utilizar, de esta manera no se considera una prueba útil cuando es necesario un rápido diagnóstico (61, 69, 103).

Recientemente se ha utilizado una prueba colorimétrica para detectar esta hidrólisis, añadiendo al cultivo -- una mezcla de Rodamina B y Acetato de uranilo, la cual produce una coloración rosa fluorescente si la reacción es positiva (157).

REACCIONES UTILIZADAS EN LA IDENTIFICACION TENTATIVA DE  
GIERTOS ESTREPTOCOCOS (127).

Procedimiento	Grupo A	Grupo B	Grupo D	No grupo A, B o D
Hemólisis	Beta	Beta	Beta, alfa o ausente.	Beta
Susceptibilidad a la bacitracina.	+ 99.5%	- 6.0%	- 1.1%	- 7.5%
Hidrólisis de la esculina en presencia de 40% de bilis.	- 0%	- 0%	+ 99.5%	- 0%
Tolerancia al NaCl 6.5%	- 1.9%	+ 79.2%	+ 79.5%	+ 15.4%
Hidrólisis del hipurato de Na	- 0%	+ 99.6%	- 5.4%	- 0.3%

PRUEBA DE CAMP.- Otra prueba utilizada como auxiliar para la identificación de Estreptococo de grupo B y que ha sido ampliamente utilizada en Microbiología veterinaria, es la que aprovecha la producción del llamado factor CAMP por este microorganismo. Nombrada así porque fueron los científicos Christie, Atkins y Munch-Petersen quienes originalmente describieron este fenómeno (127). Como ya se apuntó, este factor es una proteína extracelular que tiene la propiedad de incrementar la hemólisis de eritrocitos de carnero expuestos a la beta hemolisina estafilocócica. Clásicamente la reacción se produce inoculando una cepa de estafilococos a lo largo del diámetro de una placa de agar sangre, y la cepa de estreptococo a identificar se siembra perpendicular a ésta, sin que lleguen a juntarse; se reporta una reacción positiva cuando se observa la formación de una amplia zona de hemólisis (en forma de cabeza de flecha) en el sitio de confluencia de las dos cepas. Aún ciertas cepas no hemoliti

clínicas. La pigmentación naranja brillante puede distinguirse perfectamente y es fácil de reconocer (157). Inicialmente se utilizó para esta prueba el Agar Columbia, pero tiene la desventaja de que la coloración del medio puede enmascarar la coloración producida por el pigmento cuando las cepas son débiles productoras. La interpretación de resultados en este medio requiere de cierta experiencia, por esta razón, últimamente se utiliza un medio de cultivo similar al Agar Columbia, pero de color blanco (116), el cual permite observar fácilmente la pigmentación aún cuando las cepas a identificar sean débiles productoras. La prueba puede llevarse a cabo tanto en placas incubadas anaeróbicamente, como en tubos sembrados por punción profunda y en este caso no es necesaria la condición de anaerobiosis. Las muestras se incuban a 37°C por 24 horas, después de las cuales, la producción de pigmento es evidente (116).

#### IDENTIFICACION INMUNOLOGICA.

La identificación definitiva del estreptococo se lleva a cabo utilizando reacciones inmunológicas con sueros específicos. Los métodos utilizados para la determinación de niveles de anticuerpos varía considerablemente con respecto a las cantidades mínimas de anticuerpos que puedan ser tituladas y cuantificadas por la prueba serológica (127)

**REACCION DE PRECIPITACION.**— La prueba serológica clásica es la reacción de precipitación, la cual 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 (51).

El procedimiento original y altamente específico para identificar los componentes antigénicos en *Streptococo* de grupo B, es la técnica de precipitación capilar, ideada por Lancefield, para la cual es necesario extraer los antígenos con una solución clorhídrica a una temperatura de —

100°C por 10 minutos. Una modificación a este procedimiento emplea los extractos clorhídricos obtenidos por hidrólisis suave a 50<sup>o</sup>-52<sup>o</sup>C por 2 horas. La ventaja de esta modificación que ha sido preferida en varios laboratorios, es que pueden detectarse también las proteínas R y X. La reacción-antígeno-anticuerpo se observa por la formación de un anillo de precipitado en tubos capilares (95).

La extracción de la sustancia C se puede realizar también por otras técnicas como son: con ácido nitroso a temperatura ambiente (102), calor a presión en autoclave (2) hidrólisis enzimática con pronasa aislada de Streptomyces albus (2) y autoclave con pronasa B aislada de Streptomyces griseus (58).

**REACCIONES DE PRECIPITACION 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 aplicación de este principio ha permitido estudiar la multiplicidad de las reacciones antígeno-anticuerpo mediante el método desarrollado por Ouchterlony en Suecia, que consiste en poner soluciones de antígeno y anticuerpo en pocillos separados, dispuestos en una placa de agar. Con este método son posibles muchas alineaciones geométricas. Los reactivos se difunden a partir de los pocillos y se forman bandas de precipitación en los lugares donde se encuentran en proporciones equivalentes. La doble difusión en gel es el único método que permite el reconocimiento simultáneo de varios sistemas reactivos y sus relaciones mutuas. La demora en los resultados la hace impracticable en tipificación rutinaria (51, 53, 95).

**REACCION DE AGLUTINACION.**- En general, las bacterias y otras células se agregan (aglutinan) cuando se mezclan con sueros específicos preparados frente a ellas, este método ofrece una prueba simple para detectar los anticuerpos que-

se hallan en el suero. La aglutinación se lleva a cabo en una solución de sal, neutra y diluida, por ejemplo NaCl 0.15M. La fuerza iónica es importante, puesto que a un pH neutro, las bacterias llevan generalmente una carga de superficie negativa que debe ser adecuadamente neutralizada por iones de carga opuesta antes de que las células puedan estar en contacto, formando los anticuerpos puentes específicos entre ellos. De ahí que, aunque la superficie de las células bacterianas posea anticuerpos, es posible que la aglutinación no se produzca en caso de que la concentración salina sea excesivamente baja; en cambio, la adición de una cantidad excedente de sal, puede producir una aglutinación aún en ausencia de anticuerpos.

La reacción de aglutinación se usa ampliamente como método semicuantitativo. Un volumen determinado de una suspensión celular se añade a una serie de tubos, cada uno de ellos con un volumen fijo de suero a una dilución diferente, generalmente progresiva. El título estudiado por medio de la aglutinación no es muy preciso, pero resulta muy fácil de obtener y proporciona indicaciones válidas de la concentración relativa de anticuerpos en varios sueros, en relación con el título particular de bacterias.

El método de aglutinación posee una sensibilidad superior a la precipitación. Las voluminosas partículas recubiertas de una capa de antígeno sirven para "amplificar" la reacción. Así, las reacciones de precipitación que se producen en medios líquidos o en geles, no se detectan si el suero es diluido entre 10-50 veces, mientras que la mayoría de los sueros frente a bacterias conservan su capacidad aglutinante después de ser diluidos miles de veces.

Una tipificación rutinaria puede llevarse a cabo por reacciones de aglutinación en portaobjetos, la cual no requiere de la preparación de extractos clorhídricos. Este método permite la detección de los polisacáridos antigénicos y, de este modo, es apropiado para tipificar cepas humanas, no así para identificar cepas bovinas en las cuales es

importante identificar las proteínas R y X (48, 51, 95):

Comercialmente se aprovecha la solubilidad de los carbohidratos grupo-específicos para producir reacciones de aglutinación. El antígeno se extrae por medio de procedimientos enzimáticos, el extracto resultante se identifica utilizando partículas de látex de poliestireno que han sido cubiertas con anticuerpos grupo-específicos. Estas partículas de látex aglutinan fuertemente en presencia de su antígeno homólogo y, permanecen en suspensión en ausencia del mismo (148).

**COAGLUTINACION.**— También se ha ensayado la agrupación serológica por coaglutinación. Este método ha sido utilizado para examinar cepas sospechosas de estreptococo beta hemolítico directamente de placas de agar. Para realizarla, los anticuerpos grupo-específicos se unen a la proteína A de una cepa especial de Staphylococcus aureus, que tiene la propiedad de adsorber la inmunoglobulina IgG por la fracción Fc (constante), dejando libre la Fab (variable o combinante) que reacciona con el antígeno específico correspondiente. La aglutinación se hace en portaobjetos o placas de vidrio mezclando una gota de la suspensión de estafilococo sensibilizado, con otra del antígeno estreptocócico a agrupar (2). Este es un método rápido y confiable que no requiere de equipo elaborado o de reactivos caros y que puede utilizarse para detectar Estreptococo de grupo B en cultivos mixtos, o para identificarlo en colonias sospechosas en placas de agar (101, 105).

**INMUNOFLUORESCENCIA, INMUNOELECTROFORESIS, CONTRAINMUNOELECTROFORESIS.**— Los métodos serológicos, en sustitución de los de Lancefield, se están utilizando actualmente con mayor frecuencia y, por lo regular, se llevan a cabo con cepas de aislamiento primario o en colonias mixtas de siembras hechas en agar sangre. Las ventajas de estas técnicas incluyen:

- Diagnóstico definitivo pocas horas después de haber obtenido una muestra del paciente.
- La capacidad (en el caso de la inmunofluorescencia) de

detectar pequeños números de estreptococos en cultivos mixtos y.

c).- La capacidad para detectar cepas no hemolíticas de *Es-treptococo* de grupo B, generalmente no detectadas por los métodos convencionales.

Las principales desventajas son: el costo del equipo y las variaciones en la especificidad de algunos de los reactivos comunmente utilizados.

Aunque la identificación del microorganismo en cultivos mixtos es rápida y adecuada para estudios epidemiológicos, los resultados deben confirmarse en situaciones apremiantes con estreptococos aislados. El mimetismo antigénico observado entre los microorganismos, solamente significa que las pruebas serológicas efectuadas en cultivos mixtos nunca podrán ser 100% seguras.

**INMUNOFLUORESCENCIA.**- Las propiedades fluorescentes de las moléculas de anticuerpos y de ciertos radicales orgánicos unidos a ellos, proporcionan una base para métodos analíticos. El más importante de éstos es el denominado Inmunofluorescencia. Se utiliza ampliamente como un método de identificación rápida de las bacterias en los productos infectados, y para la identificación y localización de los antígenos intracelulares. De los distintos reactivos que introducen grupos fluorescentes en las proteínas, el más usado en el caso de los anticuerpos, es el isotiocianato de fluoresceína. Los anticuerpos suplementados con uno o dos restos de fluoresceína por molécula, son intensamente fluorescentes y retienen su reactividad específica, de aquí que pueden teñir específicamente bacterias en las extensiones y cortes de tejido. Tras haber colocado una muestra en un portaobjetos, mantenido éste y cubierto durante algunos minutos con una solución de anticuerpos marcados con fluoresceína, se lava para eliminar la proteína fluorescente no unida y se examina al microscopio de luz equipado con una fuente luminosa adecuada y unos filtros para seleccionar la luz incidente. Puesto que la luz emitida tiene una longitud de on

-da superior a la luz que incide sobre fondo oscuro, el anticuerpo se destaca como una masa verde amarillenta muy visible. Como ocurre en todas las reacciones inmunológicas es necesario establecer controles adecuados para que la prueba sea específica. Así, la coloración debe ser bloqueada mediante un tratamiento preliminar de la extensión o del tejido utilizando anticuerpos no marcados (para saturar los puntos antigénicos) y por adición de un exceso de antígeno soluble (para saturar los anticuerpos marcados). El empleo de esta técnica es altamente ventajoso en trabajos de rutina, sobre todo en laboratorios de Microbiología veterinaria, por medio de él pueden ser detectados e identificados los tipos de los microorganismos directamente de muestras de leche (48, 54, 95, 112).

**INMUNOELECTROFORESIS.**- Esta técnica combina la electroforesis con la precipitación en gel de agar, es un método simple pero extraordinariamente eficaz para identificar antígenos en mezclas complejas. La mezcla de antígeno se introduce en un pequeño pocillo practicado en el agar que se ha colocado sobre una placa semejante a los portaobjetos que se utilizan en microscopía. Manteniendo aplicado un campo eléctrico a través de la placa durante una o dos horas, las proteínas migran según su movilidad electroforética. El gradiente eléctrico se interrumpe una vez que se han separado las proteínas, entonces se introduce el suero en un canal cuyo eje es paralelo al de la migración electroforética.

Los anticuerpos y los antígenos marchan entonces unos al encuentro de otros y se forman bandas de precipitación en las intersecciones de sus frentes de difusión. Este método tiene la ventaja de que se detectan tanto los polisacáridos como las proteínas antigénicas, además, se pueden utilizar pequeñas cantidades de suero y permite el uso de mezclas complejas y aún de sueros diluidos (54, 95).

**CONTRAINMUNOELECTROFORESIS.**- Este método ofrece varias ventajas para la identificación de *Streptococo* grupo B comparado a los métodos clásicos. Requiere de poco tiempo ya que

no hay que emplear métodos de extracción y los resultados - pueden estar disponibles rápidamente cuando se examina líquido cefalo-raquídeo u otros fluidos, y en 5 horas cuando el estreptococo es detectado en placas de cultivo. Esta prueba se lleva a cabo en placas de vidrio de 7 por 15cm, cubiertas de agarosa al 1% en solución amortiguadora de barbital, en las que se hacen pocillos de 4 mm de diámetro, separados por 4 mm, poniendo los sueros en la fila de pocillos próximos al ánodo y el antígeno en la opuesta, haciendo pasar en la cámara de electroforesis una corriente de 130 voltios y 20 miliamperios durante 70 minutos. Unas líneas suaves de precipitación se forman después de este tiempo (2,87, 95).

Por último citaremos la técnica de identificación por bacteriófagos, la cual está comenzando a desarrollarse y permite la identificación de subtipos que no han podido identificarse por los métodos clásicos (149,150).

En resumen, el adoptar cuando menos dos métodos de identificación es recomendable para cualquier laboratorio. Aunque la mayoría de los *Streptococcus* de grupo B son fácilmente tipificables, siempre existe la posibilidad de encontrar cepas que no puedan tipificarse o que sean débiles productoras de antígenos y en estos casos se requerirán de métodos más sensibles.

En las técnicas inmunológicas, un buen nivel de diagnóstico depende esencialmente de la calidad del suero a examinar y, en el caso de los métodos de precipitación, también del antígeno. La experiencia del laboratorista es de un valor decisivo especialmente en las técnicas de microscopía inmunofluorescente y en inmunolectroforesis, las cuales requieren de preparaciones sofisticadas y profesionalmente exactas (95).

## CAPITULO III

### HALLAZGOS CLINICOS

**OCURRENCIA EN HUMANOS:** Incidencia y factores que influyen - en su persistencia.

Estreptococo grupo B fué considerado durante mucho tiempo únicamente como zoopatógeno y causante de la mastitis bovina crónica. Los primeros reportes de sepsis humana ocasionada por este microorganismo se publicaron en 1942. Las siguientes aportaciones en la literatura fueron escasas, hasta comienzos de la década de los setenta en que pareció notarse un aumento real de su frecuencia. Hoy día se reconoce que este microorganismo posee una amplia distribución en el ser humano, frecuentemente sin causar patología alguna. Sin embargo, en determinadas circunstancias, es posible que sea el responsable de infecciones graves, especialmente en el recién nacido, al que pueden ocasionarle cuadros de sepsis y meningitis que se acompañan de elevada mortalidad. En el adulto también pueden presentarse diversos cuadros clínicos que, por lo regular, son menos frecuentes y más leves - (9, 22, 95, 127, 142, 151).

**FACTORES QUE INFLUYEN EN SU PERSISTENCIA:**

Raza.- Pocos estudios comparativos se han hecho al respecto, y sus conclusiones no muestran diferencia notable en la incidencia entre individuos de las pocas razas estudiadas y sus estratos socioeconómicos (23, 24, 127, 171).

Edad.- Los cuadros clínicos más severos se presentan en recién nacidos; esta predisposición a la infección disminuye con la edad, aunque la presencia de este microorganismo en su papel de ocasional y oportunista puede ser detectada a cualquier edad (2, 65, 113, 127).

Sexo.- Debido a que las infecciones que se presentan en neonatos se adquieren presumiblemente por contagio en su paso a través de un canal materno colonizado, sin producir en la mayoría de los casos síntomas clínicos en la mujer portadora, los estudios se orientan hacia el sexo fe-

-menio, aunque también se ha demostrado la presencia de este estreptococo en la uretra del varón (45,76). Es de hacer notar también que tanto los cuadros de septicemia, como los de meningitis de cualquier origen en recién nacidos, se detectan en mayor grado en varones (127).

Otros factores.— Se han observado además una serie de factores que tentativamente influirían en un mayor o menor grado de persistencia tanto en adultos como en recién nacidos. En adultos se podrían citar factores como: presencia de dispositivos intrauterinos, uso de anticonceptivos orales, toallas o tampones sanitarios, el ciclo menstrual y la transmisión por contacto sexual (8,9,20,35,120,129,173). En los recién nacidos se han reportado como factores de incidencia: tiempo prolongado entre la ruptura de las membranas y el alumbramiento, nacimiento prematuro, bajo peso al nacer, partos múltiples y la transmisión intrahospitalaria (5,9,11,22,23,34,57,59,90,95,107,126,144, 168).

En vista de estos reportes, las infecciones causadas por Estreptococo grupo B no deben pasar inadvertidas, aunque su presencia no haya sido establecida convenientemente. Actualmente no podríamos estar de acuerdo con la siguiente cita textual: "el organismo produce mastitis en el ganado, pero hasta donde nuestro conocimiento lo permite, no es patógeno para el hombre, aunque ha sido aislado de la garganta y de la vagina" (95,153).

#### IMPORTANCIA DE SU PRESENCIA EN ADULTOS.

Aunque el panorama clínico de las infecciones en adultos no ha sido plenamente caracterizado, se ha observado que la frecuencia y severidad de estos cuadros disminuye considerablemente después de la infancia. Aún así, estreptococos de grupo B han sido identificados como causantes de una variedad de afecciones que incluyen: infecciones post parto (65), meningitis (33,121,167), infecciones del tracto urinario (115,117,170), faringitis (38), bacteremia, endocarditis, neumonía, empiema, osteomielitis y artritis entre

otras (9,22,95,127,168). Estos cuadros se han dividido tentativamente en dos grupos: los existentes en mujeres jóvenes, cuya colonización está asociada con complicaciones obstétricas o ginecológicas (4,65), y los que se presentan en personas de mayor edad, en las que generalmente son consecuencia de un estado inmunodebilitado por la presencia de alguna afección primaria que suelen ser trastornos génito-urinarios y, comúnmente la presencia de Diabetes mellitus (27,60,67,117,167).

La serotipificación en estos pacientes muestra a EGB tipo III, como el más comúnmente aislado, mas no se ha encontrado relación alguna entre el serotipo aislado y el órgano afectado.

RESERVORIOS.- Durante los últimos años se ha despertado un gran interés por conocer la epidemiología de este microorganismo, se han hecho intentos para aislarlo de distintos sitios del cuerpo humano y, basados en los resultados de múltiples estudios, se han sugerido el recto y el tracto urogenital como los reservorios más comunes en el adulto (6,9,20,22,25,35,43,44,63,73,85,86,91,97,110,113,120,127,129,136), - en menor proporción se ha identificado en el tracto respiratorio superior (20,38,44,49,72,85,113) y en la uretra del varón (44,45,76,98,113,142). La presencia del microorganismo en estos sitios es, por lo regular asintomática y, en algunos casos está relacionada con diferentes situaciones:

Enfermedades venéreas: Se ha encontrado que el grado de colonización vaginal entre pacientes atendidas de alguna afección venérea, es mayor que entre aquellas pacientes sin afección alguna de este tipo; esto presupone una posible diseminación de las bacterias por contacto sexual, - fundamentada en el hecho de que se identifica el mismo serotipo de estreptococo en los varones cuyas parejas están colonizadas vaginalmente (39,45,68,129). Sin embargo, otros autores reportan no haber encontrado relación alguna entre el grado de colonización y distintos comportamientos sexuales.

-les (8,96).

Ciclo menstrual.- El microorganismo se ha aislado de vagina y cérvix en una mayor proporción durante los primeros 14 días del ciclo; durante la segunda mitad, la frecuencia es mayor en recto que en uretra y cérvix, estas observaciones sugerirían que el cérvix se coloniza a través del recto durante la menstruación (8,129). Se ha sugerido también que los cambios que suceden en las células del epitelio vaginal, debido a la presencia de hormonas principalmente, permitirían una mayor adherencia de estreptococo a la vagina, que aumentaría gradualmente durante la primera mitad del ciclo, llegando a un máximo el 14o. día para mantener un nivel que persistiría durante la segunda mitad del ciclo (173).

Dispositivos intrauterinos, tampones y toallas sanitarias.- La presencia de un cuerpo extraño en el cérvix, probablemente hace persistente la colonización en este lugar, ya que los porcentajes de incidencia reportados son mayores que los observados entre personas que utilizan toalla sanitaria (8,129). Se señala también el hecho de haber encontrado autores que no reportan relación alguna (45).

Los resultados obtenidos de los diferentes estudios varían considerablemente; probablemente el origen de estas variaciones radique en el hecho de que no se han llegado a unificar técnicas y medios de cultivo utilizados, -- grupos de estudio comparados y sitios corporales detectados. Sin embargo, la mayoría de los autores detectan un mayor grado de colonización en recto, y es posible que el porcentaje real sea mayor, pues el gran número de bacterias presentes en este sitio dificulta la identificación de estreptococo, -- aún cuando se utilicen medios selectivos(14). Por estas apreciaciones se ha sugerido que el principal hábitat de *Es-treptococo* grupo B en la mujer, sea el tracto gastro-intestinal (56,91,93).

RESERVORIOS EN EL RECIÉN NACIDO.- Los factores que afectan la colonización en el recién nacido aún no están debidamen-

-te esclarecidos. En los estudios en los que se han comparado raza, sexo, tiempo de gestación, peso al nacer, no se reportan diferencias sensibles (5,9). Aunque algunos autores consideran que los niños nacidos de madres portadoras tienen un alto riesgo de infección, la mayoría de los bebés colonizados son asintomáticos. Se considera que una mayor o menor predisposición a la incidencia, radicaría en la presencia de un microorganismo más o menos invasivo, tipo y virulencia de la cepa y la presencia o ausencia de anticuerpos (74)

En los recién nacidos se han detectado como principales reservorios: el canal auditivo externo, el ano, las fosas nasales, la garganta y el ombligo (6,9,22,40,43,52,71,74,95,106,109,125,143,168).

Una colonización temprana podría suceder "in utero" por contaminación del líquido amniótico, ya que productos nacidos por cesárea muestran colonización (23,60), o por el paso del neonato a través del canal materno colonizado; el tiempo prolongado de ruptura de las membranas o la ruptura mecánica de las mismas, permitiría una mayor exposición del feto al microorganismo (52) y que éste colonizara múltiples sitios además de los ya mencionados pues se ha identificado en intestino grueso, intestino delgado, heces, pulmones y piel. En este tipo de colonización se observa una coincidencia entre los serotipos aislados tanto de la madre, como de su producto (37,74,126).

Una colonización extrauterina o tardía, probablemente se adquiere por contacto con otros neonatos infectados o por medio de portadores asintomáticos entre el personal hospitalario (23,74,122,144,171). También se ha reportado el caso de transmisión adquirida a causa de la alimentación con leche materna colonizada, aunque es probable que la madre haya adquirido el microorganismo a través del mismo neonato, colonizado tardíamente (23,100,108,138).

Otro estudio interesante es el que nos reporta la persistencia en la colonización del infante durante su es -

-tancia en el hospital, y una descolonización espontánea al abandonarlo, una posible explicación podría darse al recordar el llamado "antagonismo entre ciertas bacterias", es decir, los microorganismos considerados como flora normal de la piel, por ejemplo, estafilococos, son generalmente inhibidos durante la primera semana debido principalmente a los métodos profilácticos aplicados al cordón umbilical (158). Al abandonar el hospital, la acción de los bactericidas decrece, permitiendo al estafilococo recolonizar al infante, - estos microorganismos aparentemente inhiben el crecimiento de estreptococo grupo B, es decir, existe una relación inversa entre estas bacterias. Estas observaciones en el antagonismo bacteriano podrían explicar parcialmente la epidemiología cambiante del estreptococo y darían la pauta a nuevos y exhaustivos estudios para un posible control del microorganismo que nos ocupa (143).

#### IMPORTANCIA EN EMBARAZADAS.

Estreptococo de grupo B, es un agente frecuentemente aislado de exudados vaginales en mayor proporción en gestantes. El reconocimiento de la bacteria en este sitio es de vital importancia debido a que las infecciones severas que se presentan en neonatos las adquieren, presumiblemente, por contaminación vaginal (5, 9, 22, 23, 25, 28, 34, 47, 60, 74, 118). Se ha señalado el hecho de que el reservorio real de este agente sea el tracto gastro-intestinal, ya que la tasa de portadoras rectales es casi el doble de las portadoras vaginales, considerándose esta última localización, una colonización secundaria (7, 22). Sin embargo, algunos autores difieren, al reportar solamente colonización en alguno de estos sitios (25).

Los autores nos explican la conveniencia de practicar reconocimientos periódicos durante el embarazo, siendo de vital importancia el llevar a cabo un estudio de exudado vaginal en el último trimestre (17, 23, 24, 45, 47, 54, 74, 63, 132, 171). Se reporta también una disminución en la incidencia a partir del tercer embarazo y, como consecuencia, -

con la edad. Aunque se han hecho intentos por entender los procesos inmunológicos, no se ha podido explicar cómo aumenta la resistencia al microorganismo en estas situaciones (19). Además se ha mencionado una posible relación entre gestantes con sangre tipo B y un mayor grado de colonización en cérvix (131), aunque otros estudios no apoyan esta suposición (90,124).

En nuestro país solamente se tiene conocimiento de un estudio llevado a cabo en el Centro Médico Nacional (47) en un grupo de 200 embarazadas en las que se practicaron exámenes rectales y cervicales durante su última visita prenatal (38+2 semanas). Los resultados mostraron un mínimo grado de colonización. Debido a que el factor más significativo para que se presente la infección por EGB en el neonato es la presencia del microorganismo en el tracto genital-materno en el momento del parto, el bajo grado de colonización detectado entre esta población explicaría la baja y esporádica incidencia de septicemias neonatales provocadas por este microorganismo.

#### IMPORTANCIA EN RECIEN NACIDOS.

La importancia de *Streptococo* grupo B como causante de serias infecciones en neonatos, fué establecida primeramente por Baker y Barret (7) y por Franciosi (74). Estos investigadores distinguieron dos síndromes clínicos, claramente diferenciados, basados principalmente en la edad del neonato. Aunque no se ha delimitado la presencia de estos síndromes, el primero de ellos, o síndrome temprano, se observa por lo regular en el neonato de  $\leq 10$  días; el segundo síndrome o infección tardía se presenta en infantes después de su primera semana de vida ( $\geq 10$  días a 4 meses) (9,19,22,42,64,66,125,127,131,132,147,161,168,171).

La infección temprana o septicémica está relacionada directamente con el grado de colonización materna y con las complicaciones obstétricas ya mencionadas. La relación-infección-colonización es baja, pero cuando el padecimiento se presenta, por lo regular siempre es mortal, aún cuando -

se haya administrado el tratamiento con los antibióticos adecuados.

Este cuadro también se observa en infantes a término y en ausencia de irregularidades obstétricas.

Los síntomas que se observan en este cuadro son: septicemia generalizada, períodos de apnea y choque generalmente dentro de las primeras 24 horas de vida. Debido a esta sintomatología, la infección temprana puede quedar enmascarada por síndromes respiratorios de distinto origen. Es difícil diferenciar estos cuadros tanto clínica como radiológicamente, ya que como se indicó, los dos presentan fallas respiratorias y, además, se observa como característica común la formación en los pulmones de una membrana hialina. La formación de esta membrana se presenta como una reacción no específica del parénquima pulmonar en condiciones adversas. Este fenómeno se ha prestado a varias interpretaciones sin que hasta el momento se haya llegado a una conclusión definitiva. Se ha sugerido que el estreptococo juega un papel importante en la formación de dicha membrana, al dañar las paredes alveolares y dañar los tejidos. Otra explicación sería que el microorganismo tiene especial afinidad por esta membrana, lo cual favorecería su crecimiento (1,84,99,131,156). La característica distintiva de las membranas observadas en neonatos infectados, es la presencia de cocos Gram positivos, esta sería la única evidencia patológica que ayudaría a diferenciarla de la que se forma debido a complicaciones respiratorias de otro origen (1).

Aunque se ha sugerido que la presencia de cocos Gram positivos en el aspirado gástrico sería un método adecuado de diferenciación, generalmente la evolución de la enfermedad es tan rápida que los procesos de laboratorio se limitan a la administración de medicamentos con la prontitud debida(141).

Ultimamente se ha mencionado como un nuevo grupo expuesto a esta infección, infantes producto de partos múltiples (59,126), y casos de muerte intrauterina provocada -

por Estreptococo grupo B (31).

Podríamos concluir apuntando que la infección temprana o septicémica debe sospecharse en infantes que presenten fallas respiratorias, ya que al presentar estos cuadros características clínicas, radiográficas y patológicas similares, debe prestarse atención a la sintomatología para poder distinguir debidamente estos desórdenes respiratorios.

En contraste con la infección temprana, la infección tardía o meningítica se presenta después de la primera semana de vida del neonato. Las complicaciones obstétricas no están asociadas con este síndrome, los cuadros clínicos son leves y el grado de mortalidad bajo; sin embargo, se observan secuelas neurológicas en pacientes recuperados que llegan a desaparecer con el tiempo (88).

En este síndrome se sugiere como fuente de infección, el contacto con otros neonatos colonizados, la transmisión intrahospitalaria (23,57,62,122,144) y, en algunas ocasiones a través de la leche materna (23,100,108, 138). La mayoría de los infantes desarrollan meningitis, además se observan varias manifestaciones clínicas como: osteomielitis, impétigo, onfalitis, conjuntivitis purulenta, lesiones semejantes al eritema nodoso, etmoiditis, otitis media, entre otras (7,9,20,22,29,67,74,84,87,95,127,156,168). Se han presentado casos de recurrencia, probablemente debido a un tratamiento inadecuado o a una recolonización posterior (36, 154,159).

#### OCURRENCIA EN ANIMALES.

S. agalactiae es el agente causal de la mastitis bovina que también puede presentarse en chivos y ovejas. En secreciones de ubres infectadas puede observarse microscópicamente formando cadenas, en algunas ocasiones son numerosas y fácilmente detectadas con tinciones adecuadas, en otras, y aún cuando la leche no tiene la apariencia ordinaria, los microorganismos son escasos y difíciles de observar. En agar sangre producen una típica doble zona de hemólisis (zona central de hemólisis total y zona periférica de

hemólisis parcial).

El hábitat de S. agalactiae está confinado a la glándula mamaria. La infección se disemina entre estos animales por contacto manual de los trabajadores o por medio de un equipo de ordeña contaminado. El microorganismo se multiplica en la superficie de la glándula mamaria produciendo inflamación y fibrosis en las áreas contiguas a la ubre, los mas expuestos son los animales viejos porque probablemente existe en ellos una predisposición causada por ordeñas excesivas. La apariencia de la leche en muchos casos es prácticamente normal, y en otros, muestra distintos grados de alteración, desde pequeños coágulos o escamas, filamentos de fibrina, material purulento, hasta un aspecto viscoso. La consistencia suave, normal de la ubre, se transforma en una consistencia dura, generalmente con presencia de nódulos no detectables a simple vista, pero si al tacto. El pH de la leche se altera de ligeramente ácido a alcalino, en esto se basan las pruebas de color para la detección de la mastitis. Desafortunadamente sucede que la leche en los estados temprano y último de la lactancia es alcalina, en consecuencia y en estas circunstancias, las pruebas de color no son indicativas de la existencia de mastitis. Para una mejor identificación del estreptococo se sugiere un cultivo en agar sangre, la prueba de CAMP y otras pruebas bioquímicas.

Los anticuerpos contra los antígenos celulares han sido detectados en el calostro. Los niveles de IgA pueden incrementarse mediante una vacunación previa, aunque este no es un método 100% efectivo en el control de la infección.

S. agalactiae es sensible a la penicilina administrada por vía intramamaria, el ganado infectado debe aislarse, la eliminación completa de la infección no se ha logrado, posiblemente porque el ganado puede ser reinfectado a través de portadores humanos. La significación epidemiológica de estos portadores como fuente de infección, no ha sido

comprobada (82).

#### CEPAS DE ORIGEN HUMANO Y BOVINO.

S. agalactiae es principalmente un microorganismo de origen bovino y humano, aunque se ha aislado de peces, perros y ocasionalmente de otras especies animales (37,162).

No existe una evidencia definitiva de que el ganado infectado sirva como reservorio para transmitir este estreptococo a humanos. La frecuencia con que se presenta el Estreptococo grupo B entre las personas que tienen contacto con animales infectados, no es mayor que entre aquellas personas de determinados grupos de control, además el serotipo de estreptococo no corresponde al aislado en muestras de leche.

Diversos estudios que se han llevado a cabo, han demostrado que existen algunas diferencias bioquímicas, biológicas y serológicas; las cepas humanas son más virulentas para los ratones e incapaces de fermentar la lactosa, mientras que las cepas bovinas son menos virulentas y usualmente fermentadoras de lactosa, así también, muestran variaciones en los patrones de las reacciones bioquímicas y distribución de serotipos. Por el método de precipitación capilar de Lancefield se han podido clasificar el 100% de las cepas humanas, pero solamente el 75% de las cepas bovinas.

La identificación de los distintos serotipos de este estreptococo es de considerable importancia en epidemiología, por ejemplo, para el estudio de focos de infección, ya que se discute frecuentemente la cuestión acerca de cuál tipo representa mayor riesgo de infección para los neonatos. Varios autores (17,20,144,161) han observado que el serotipo III se presenta con mayor frecuencia en sepsis neonatales y meningitis. En opinión de Baker (12) este serotipo posee propiedades invasivas que permiten la penetración del microorganismo en las meninges. En embarazadas, las cepas tipo II y III son las más frecuentes.

Es difícil explicar el desacuerdo en la distribución de los diferentes serotipos, y estos reportes sólo a -

acentúan la importancia de llevar a cabo una serotipificación correcta. Si en realidad existe una relación entre el serotipo presente y la severidad de la infección esto sería de gran ayuda en las medidas preventivas a tomar; además, otro problema que podría ser resuelto por serotipificación, al menos parcialmente, sería el problema de transferencia de cepas bovinas al hombre y viceversa, y su capacidad para producir procesos infecciosos en el nuevo huésped.

En las cepas bovinas es significativo el predominio de las proteínas antigénicas R y X.

A la fecha no hay un criterio confiable para diferenciar los dos tipos de cepas, además de que no se ha observado la transmisión de la enfermedad entre las especies que se han comentado (95,127).

## CAPITULO IV

### INMUNIDAD

Aunque *Estreptococo grupo B* se asocia actualmente con enfermedades invasivas neonatales, poco se conoce acerca de la inmunidad natural hacia este microorganismo en el huésped humano. A pesar de que estas enfermedades se presentan regularmente en infantes, aún no se han comprendido perfectamente sus características clínicas y los factores de riesgo asociados con la enfermedad, así como la frecuencia de portadores asintomáticos y, principalmente la información acerca de la presencia de una inmunidad natural en embarazadas es escasa; sin embargo, se ha observado que una baja concentración de anticuerpos en el suero de la madre, está relacionada directamente con la presencia de infecciones en sus productos. Como ha quedado establecido, los polisacáridos tipo-específicos están asociados con la patogenicidad y virulencia de esta bacteria, así se asume la existencia de anticuerpos protectores como algo lógico, no obstante no se ha encontrado el método deseable para detectar estos anticuerpos en el suero humano. Aunque los serotipos I, II y III se encuentran regularmente distribuidos entre las embarazadas, las enfermedades neonatales serias son causadas por el serotipo III, y es por esta razón que el estudio de la formación de anticuerpos frente a este serotipo, en embarazadas y neonatos, sea el primer paso para entender la respuesta inmune, ya que se ha observado que el suero de mujeres colonizadas que procrean neonatos saludables, contiene concentraciones significativamente altas de anticuerpos. -- Ciertamente, una baja concentración de anticuerpos en el suero de mujeres en trabajo de parto, es indudablemente uno de los varios factores relacionados con la patogénesis. Los anticuerpos detectados en estos estudios son primordialmente de la clase IgG, el producto los adquiere por transferencia placentaria (5,18,19,28,95).

Si la deficiencia de anticuerpos en la madre es -

el mayor determinante en la patogénesis, una correcta inmunización por medio de vacunas podría proporcionar niveles razonables de protección a sus productos (19, 41).

La inmunoprofilaxis, es uno de los métodos que está siendo investigado como medida preventiva. La teoría de la inmunoprofilaxis sostiene que, inmunizar a la mujer antes del embarazo, podría estimular la producción de anticuerpos que darían al feto, y posteriormente al recién nacido la inmunidad necesaria (37).

Dado que una embarazada puede estar colonizada con más de un serotipo, sería deseable desarrollar una vacuna multivalente, esta vacuna debe provocar respuesta a todos los serotipos, sin tener efectos secundarios para que sea efectiva. El título de anticuerpos debe ser constante y tener capacidad para cruzar la barrera placentaria; deben producirse en cantidad suficiente y tener una alta afinidad por el antígeno, con el objeto de que efectivamente suprima la invasión del microorganismo en el huésped.

Esto parece no ser posible, ya que es conocido que cuando se administran simultáneamente varios antígenos, puede resultar una competencia antigénica que traería como consecuencia la disminución de la respuesta inmune a algunos de ellos.

Hasta el momento solamente se ha ensayado con vacunas conteniendo el polisacárido tipo III. Esta vacuna se ha experimentado en voluntarios y en el 72.7% se obtuvo una respuesta inmune favorable que no produce efectos secundarios. La presencia de estos anticuerpos persiste por lo menos 6 meses.

La presencia de estos anticuerpos hacia el polisacárido tipo-específico puede no ser suficiente y la protección puede depender de las características de la cepa, así como también de la inmadurez del sistema inmune del neonato, o de un defecto funcional en la capacidad de los leucocitos hacia sus funciones fagocitarias. Es necesario entender también el alcance de transferencia de anticuerpos -

maternos después de 34 semanas de gestación, ya que existe un alto porcentaje de riesgo entre prematuros y esta población podría no estar debidamente protegida a pesar del alto nivel de anticuerpos maternos.

Por todo lo señalado anteriormente, se deduce que son necesarias investigaciones más profundas acerca de la naturaleza de los polisacáridos capsulares y su capacidad para producir una respuesta inmune en el huésped, tanto natural como adquirida, activa o pasiva (37,127).

## CAPITULO V

### TRATAMIENTO.

Las investigaciones acerca de la quimioprolifaxis como el medio más efectivo para prevenir las infecciones — por *Estreptococo* grupo B, están inconclusas, y las opiniones de los diversos autores no concuerdan. Algunos se muestran a favor y otros en contra de administrar antibióticos a embarazadas colonizadas (22,74), y otros más sugieren la conveniencia de suministrarlos a sus productos inmediatamente después del nacimiento (140,145).

En las embarazadas colonizadas no es factible eliminar el microorganismo con antibióticos, dado que con los exámenes vaginales practicados durante el embarazo no es posible predecir la flora vaginal existente en el momento del parto. La madre puede adquirir el estreptococo después de un examen negativo, o recolonizarse después de un tratamiento antimicrobiano; además este tratamiento podría exponerla a dosis innecesarias de antibiótico y no siempre esta terapia es efectiva para eliminar al microorganismo (36,37,78,80,159).

Aunque el *Estreptococo* grupo B muestra una menor susceptibilidad a la penicilina que cualquier otro grupo de estreptococos, en la mayoría de los casos es la droga a utilizar en el tratamiento, tanto de infantes como de adultos. Este tratamiento deberá administrarse de acuerdo al riesgo de colonización y estará sujeto tanto a criterio científico como a la lógica, ya que existe también la evidencia de que las parejas pueden reinfectarse mutuamente y que aún administrando tratamiento a ambos, en muchas ocasiones el estado de portador no necesariamente se elimina y si puede presentarse el riesgo de una hipersensibilidad al antibiótico (74,83,114,127,134).

Los datos de la erradicación del estreptococo de las superficies externas del neonato, están aún más limitados, pero sugieren que la penicilina es relativamente inefectiva y que aún después de un tratamiento intensivo en —

neonatos con septicemia, el estreptococo no se elimina totalmente de la garganta, ombligo y recto (123,144).

Se recomienda tomar en cuenta ciertas consideraciones antes de administrar antibióticos:

1.- La penicilina no siempre es efectiva para erradicar la colonización, a pesar de la relativa alta sensibilidad del EGB a este antibiótico "in vitro". Los antibióticos alternativos serían la ampicilina y la eritromicina (3, 107, 114, 123, 137).

2.- Los antibióticos no son totalmente inócuos y, no son seguros en el 100% de los casos.

3.- Existe el riesgo de recolonización en embarazadas por transmisión venérea.

4.- Las fuentes de infección no maternas no son esencialmente afectadas por la profilaxis con antibióticos, en este caso, generalmente las medidas higiénicas son válidas para la prevención de transmisión hospitalaria (95).

La extensión y severidad de las enfermedades neonatales por *Streptococo* grupo B están bien documentadas y ampliamente reconocidas. Desafortunadamente la formulación de medidas preventivas efectivas es limitada, debido a que se ignora mucho acerca de la epidemiología y la inmunología de esta bacteria que es inexplicablemente virulenta para los infantes en su período neonatal. Es posible que en un futuro, los estudios inmunológicos sirvan de base para identificar embarazadas con alto riesgo de infección para sus productos y, de este modo, aplicar las medidas preventivas necesarias (22).

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES.

1.- *Estreptococo grupo B* es, junto con *Escherichia coli*, la causa más común de bacteremias y meningitis neonatales en gran parte de Europa y Norteamérica, constituyendo un cambio básico en el esquema de los padecimientos neonatales.

2.- En Veterinaria, el interés por este microorganismo ha disminuído, dada la eficacia de la penicilina en el tratamiento de la mastitis bovina.

3.- La Dra. Rebecca C. Lancefield consigue un esquema de clasificación serológica al reconocer en la pared-celular de estos microorganismos, carbohidratos específicos.

4.- Los distintos serotipos se identifican detectando los carbohidratos capsulares tipo-específicos, distinguiéndose así los serotipos Ia, Ib, II y III en cepas humanas, y los serotipos R y I en cepas bovinas, cuyo componente antigénico es una proteína.

5.- El carbohidrato de grupo está compuesto químicamente por L-ramnosa, galactosa y glucosamina; y los tipo-específicos por galactosa, glucosamina y, dependiendo del método de extracción y purificación, glucosa y ácido silícico.

6.- Tanto los carbohidratos tipo-específicos, como las proteínas R y I, están relacionadas con la virulencia del microorganismo.

7.- El uso de medios selectivos se hace necesario sobre todo, en la identificación de colonización vaginal -- por este estreptococo.

8.- En el laboratorio, una combinación de pruebas bioquímicas permite la identificación presuntiva de una colonia presumiblemente de *Estreptococo grupo B*. La identificación definitiva se lleva a cabo por técnicas serológicas.

9.- *Estreptococo grupo B* forma parte de la flora normal en humanas y se aísla con frecuencia variable de va-

-gina, recto, uretra y faringe de adultos sanos, y del canal auditivo, fosas nasales, faringe y ombligo de neonatos.

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

11.- *Estreptococo grupo B* induce en el neonato la presencia de dos cuadros clínicos: uno mortal, comunmente a asociado con complicaciones obstétricas y que generalmente se presenta dentro de las primeras 24 horas de vida; otro que se presenta después de varias semanas de nacido, como consecuencia principalmente de una transmisión intrahospitalaria y que se caracteriza por cuadros meningícticos, benignos en la mayoría de los casos.

12.- De particular interés resulta la evidencia de varios estudios que coinciden en señalar los tractos gastro-intestinal y géntio-urinario, como los principales reservorios del microorganismo.

13.- El tratamiento con antibióticos a portadoras vaginales o a sus parejas colonizadas uretralmente, no es satisfactorio en la mayoría de los casos, ya que el microorganismo puede readquirirse por contaminación rectal, perianal, o por contacto sexual.

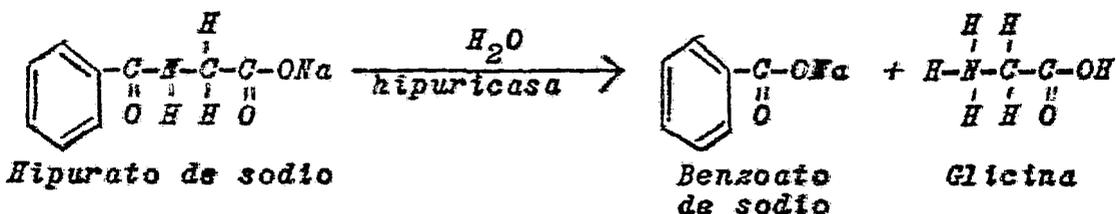
14.- Las investigaciones referentes a la epidemiología y patogénesis de este estreptococo han ayudado a definir el problema, mas no a resolverlo, y varias interrogantes permanecen sin respuesta, o requieren de evaluaciones adicionales para que en un futuro se llegue a entender el comportamiento de este estreptococo en la patogenia humana.

**A N E X O S .**

**MEDIOS DE CULTIVO.  
TECNICAS.**

HIDROLISIS DEL HIPURATO (103)

La enzima hipuricase, produce la hidrólisis del hipurato de sodio, dando como productos resultantes: benzoato de sodio y glicina.



La hidrólisis del hipurato puede detectarse por cualquiera de estos dos métodos:

1.- Utilizando cloruro férrico al 7% para detectar la formación de benzoato:

a).- Inocular tubos de ensayo conteniendo Medio Hipurato de sodio con el microorganismo a identificar. Incubar a 35°C por 20 horas o más.

b).- Centrifugar los tubos y tomar con una pipeta 0.2 ml del sobrenadante, pasarlo a un tubo limpio.

c).- Añadir 0.2 ml de la solución de cloruro férrico al segundo tubo y mezclar. Se observa la formación de un precipitado café rojizo, pesado. Si la solución se aclara antes de 10 min, se considera una reacción no específica, debida a la interacción del hipurato no hidrolizado, o a la proteína del medio. Si el precipitado persiste por más de 10 min, será indicativo de que la hidrólisis se ha llevado a cabo, con formación de benzoato de sodio. En este caso se reporta reacción positiva.

2.- Utilizando ninhidrina para detectar la glicina:

a).- A un tubo de ensayo pequeño con cultivo de estreptococo, agregar 0.4 ml de solución de hipurato de sodio al 1%.

b).- Incubar a 35°C por 2 horas.

c).- Añadir 0.2 ml de solución de ninhidrina, mezclar. La presencia de un color rojo púrpura después de esta adición, indica la presencia de glicina y una hidrólisis positiva del hipurato

MEDIOS Y REACTIVOS.

Prueba del benzoato:

1.- Medio Hipurato de sodio:

Caldo infusión-corazón.....25 g

Hipurato de sodio.....10 g

Agua destilada.....1000 ml

2.- Solución de cloruro férrico:

FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O.....12 g

HCl al 2%.....100ml

Prueba de la glicina:

- 1.- Solución de hipurato de sodio  
Hipurato de sodio.....1 g  
Agua destilada.....100 ml
- 2.- Solución de ninhidrina  
Ninhidrina.....3.5 g  
1:1 acetona-butanol.....100.0 ml

CALDO INFUSION DE CEREBRO Y CORAZON. (Cultivo de gérmenes e xigentes)(111).

Es un medio líquido muy rico en nutrientes y especialmente útil para el cultivo y desarrollo de gérmenes delicados y difíciles, tales como estreptococos, pneumococos, meningococos. Es muy recomendable para efectuar hemocultivos.

Fórmula aproximada en gramos por litro:

Infusión de cerebro de ternera.....	200.0
Infusión de corazón de res.....	250.0
Peptona de gelatina.....	10.0
Dextrosa.....	2.0
Cloruro de sodio.....	5.0
Fosfato disódico.....	2.5
pH final 7.4 ± 0.2	

Preparación: Suspender 37 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada y calentar ligeramente si es necesario. Se puede agregar 0.1% de agar, si se desea, sobre todo en cultivos de sangre. Envasar y esterilizar a 121°C (15 lb. de presión) durante 15 min.

Usos: Es un medio muy versátil y de uso general empleado para cultivar gérmenes difíciles. Al agregar 0.1% de agar se reducen las corrientes de convección de oxígeno que favorecen el desarrollo de gérmenes anaerobios y aerobios.

El medio fluido se debe utilizar el mismo día de su preparación, de no ser así, calentar en baño de agua hirviendo para expulsar el oxígeno disuelto.

PRUEBA DE CAMP (103)

La presencia en este estreptococo del llamado "factor CAMP", sirve de base a esta prueba, al acrecentar la actividad hemolítica de la beta lisina estafilocócica en eritrocitos de carnero.

La prueba se lleva a cabo en cajas de Petri conteniendo Agar-sangre de carnero al 5%. El estreptococo a identificar se siembra perpendicularmente a una cepa de Staphylococcus aureus, productora de beta lisina, sin que lleguen a juntarse (debe quedar una distancia de 5-8 mm). Para un mejor interpretación de la prueba se sembrará también y en la misma caja, una cepa testigo.

Incubar en aerobiosis. El incubar en atmósfera de CO<sub>2</sub>, puede acelerar la reacción, pero en este caso, Estreptococo grupo A puede darnos una reacción falsa positiva.



El aumento de la zona de hemólisis en el sitio — donde confluyen las cepas será indicativo de una prueba de CAMP positiva.

BASE DE AGAR SANGRE (111)

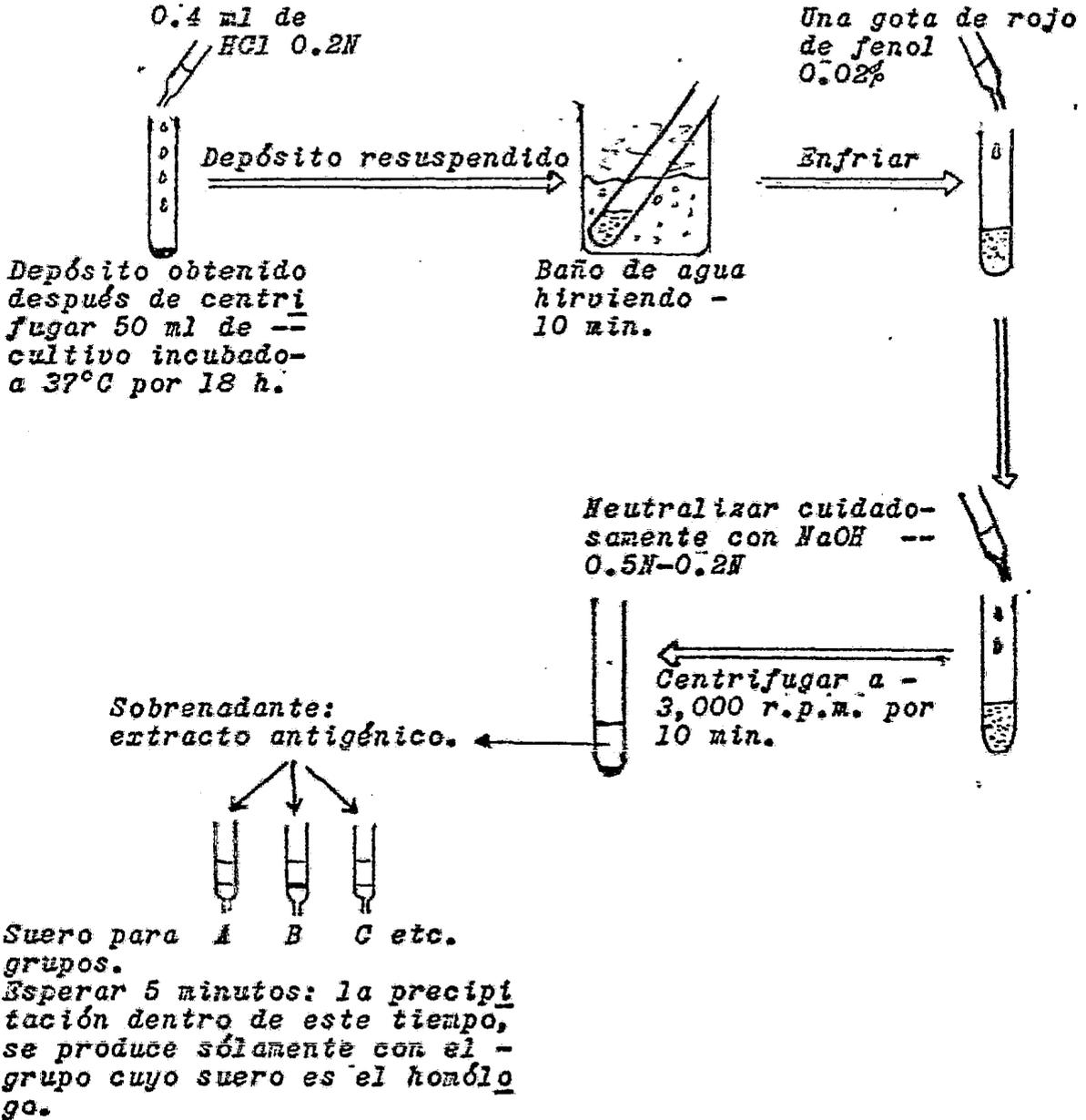
La base de agar sangre es adecuada para aislar y cultivar diversos microorganismos de difícil crecimiento. Al añadir sangre, puede usarse para descubrir la actividad hemolítica.

Fórmula aproximada en gramos por litro:

Infusión de músculo cardíaco.....	375
Peptona de carne.....	10
Cloruro de sodio.....	5
Agar.....	15

Preparación: Suspender 40 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Remojar entre 5 y 10 minutos. Hervir durante un minuto. Los matraces pueden taparse y colocarse directamente en autoclave. Esterilizar a 121°C (15 lbs de presión) durante 20 minutos. Después de esto enfriar a 45 -50°C y añadir de 5 a 10% de sangre desfibrinada estéril, homogeneizar y vaciar en cajas Petri estériles. Utilizar sangre de carnero.

REACCION DE PRECIPITACION CAPILAR.  
METODO DE LANCEFIELD (79).



**MEDIO SELECTIVO PARA AISLAMIENTO DE ESTREPTOCOCCO GRUPO B (14)**

**Preparación:** Añadir a un tubo de ensayo conteniendo 4.75 ml de Caldo Todd-Hewitt, 0.5 ml de una solución de antibióticos preparada con 15 ug/ml de ácido nalidíxico y 8 ug/ml de sulfato de gentamicina, agregar 0.25 ml de sangre desfibrinada de carnero.

**CALDO DE TODD-HEWITT.**

El caldo de Todd-Hewitt fue originalmente desarrollado para la producción de hemolisina estreptocócica. El Caldo modificado por Updyke y Nikle se emplea de preferencia para el cultivo de estreptococos beta-hemolíticos, especialmente para estudios de tipificación serológica.

**Fórmula aproximada en gramos por litro:**

Infusión de corazón.....	500.0
Peptona.....	20.0
Dextrosa.....	2.0
Cloruro de sodio.....	2.0
Fosfato dipotásico.....	0.1
Carbonato de sodio.....	2.5
pH final 7.8 ± 0.2	

**Preparación:** Disolver 30 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Distribuir y esterilizar en autoclave a 121°C (15 lbs de presión) durante 15 minutos.

**Usos:** El caldo de Todd-Hewitt se usa en los estudios de agrupamiento y tipificación serológicas de estreptococos beta-hemolíticos, y para su identificación en estudios clínicos y epidemiológicos. Para la elaboración del Agar de Todd Hewitt se añaden de 13 a 15 g de Agar bacteriológico por litro de medio de cultivo.

**MEDIOS PARA DETECCIÓN DE PIGMENTO.**

**BASE DE AGAR COLUMBIA:** Medio básico para preparación de gelosa sangre, muy rico en materiales nutritivos y especialmente útil para cultivar y multiplicar gérmenes exigentes. La base de agar Columbia es eficaz para la preparación de medios de sangre al igual que de chocolate. También puede ser utilizada como base para diversos medios selectivos y de identificación (111).

**Fórmula aproximada en gramos por litro:**

Mezcla de peptonas.....	10.0
Almidón de maíz.....	1.0
Cloruro de sodio.....	5.0
Peptona biotriptasa.....	10.0

Peptonas de músculo cardíaco.....13.0  
Agar.....13.5  
pH final 7.3 ± 0.2

**Preparación:** Suspender 42.5 del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Calentar agitando frecuentemente y hervir durante un minuto. Distribuir y esterilizar en autoclave a 121°C (15 lbs de presión) durante 15 minutos.

**Usos:** La base de Agar Columbia es empleada de manera eficaz para preparar una extensa variedad de medios utilizados en Bacteriología Médica. Las reacciones en agar sangre son netamente definidas. La mayor parte de las bacterias patógenas comunes se desarrollan aún sin la adición de sangre. La base de Agar Columbia es empleada de manera satisfactoria para la preparación de otros medios de enriquecimiento especiales y/o incorporando varios agentes selectivos inhibitorios.

**MEDIO MODIFICADO DE ISLAM:** Para detectar la producción de pigmento con mayor precisión (92).

**Fórmula aproximada en gramos por litro:**

Proteosa peptona.....23.0  
Almidón de maíz.....5.0  
Fosfato disódico.....5.749  
Fosfato monosódico.....1.482  
Agar.....10.0  
pH final 7.4

**Preparación:** Suspender los componentes en un litro de agua destilada, calentar en baño de vapor durante 5 minutos. Esterilizar en autoclave por 15 minutos. Enfriar a 55°C. Añadir 50 ml de suero esterilizado de caballo. Distribuir en cajas de Petri.

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Ablow R.C., S.G. Driscoll, E.L. Effman, I. Gross, C.J. Jolles, R. Uauy and J.B. Warshaw.  
A comparison of early-onset Group B Streptococcal neonatal infection and the respiratory-distress syndrome of the newborn.  
*New Eng. J. Med.* 294:65-70, 1976.
- 2.- Ales Reinlen J.M., A. Elola-Olaso y F. Soriano Garcia.  
Identificación del género *Streptococcus*.  
*Rev. Clin Esp.* 140:321-325, 1976.
- 3.- Allen J.L. and K. Sprunt.  
Discrepancy between minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of penicillin for groups A and B beta-hemolytic streptococci.  
*J. Pediatr.* 93:69-7., 1978.
- 4.- Amstey M.S.  
Low morbidity in the surgical patient with Group B --- Streptococci.  
*Obstet Gynecol.* 50:428-430, 1977.
- 5.- Ancona R.J., P. Ferrieri and P.P. Williams.  
Maternal factors that enhance the acquisition of Group B Streptococci by newborn infants.  
*J. Med. Microbiol.* 13:273,280, 1980.
- 6.- Badri E.S., S. Zawaneh, A.C. Cruz, G. Mantilla, H. Baer, J.N. Spellacy and E.M. Ayoub.  
Rectal colonization with Group B Streptococcus: Relation to vaginal colonization of pregnant women.  
*J. Inf. Dis.* 135:308-312, 1977.
- 7.- Baker C.J., D.K. Goroff, S. Alpert, V.A. Crockett, S.E. Zinner, J.R. Euvard and W.H. McCormack.  
Suppurative meningitis due to Streptococci of Lance -- field Group B. A study of 33 infants.  
*J. Pediatr.* 82:724, 1973.
- 8.- Baker C.J., F.F. Barret, R.C. Gordon and H.D. Yow.  
Vaginal colonization with Group B Streptococcus: A -- study in a College Women.  
*J. Inf. Dis.* 135:392-397, 1977.
- 9.- Baker C.J.  
Summary of the workshop on perinatal infections due to Group B Streptococcus.  
*J. Inf. Dis.* 136:137-152, 1977.

- 10.- Baker C.J. and D.L. Kasper.  
Immunological investigation of infants with septicemia or meningitis due to Group B Streptococcus.  
*J. Inf. Dis.* 136, Suppl., 1977.
- 11.- Baker C.J. and D.L. Kasper.  
Identification of Sialic acid in polysaccharide antigens of Group B Streptococcus.  
*Infect. Immun.* 13:284-288, 1976.
- 12.- Baker C.J., D.L. Kasper and C.E. Davis.  
Immunochemical characterization of the Group B Streptococcus.  
*J. Exp. Med.* 143:255-269, 1976.
- 13.- Baker C.J. and D.L. Kasper.  
Microcapsule of type III strains of Group B Streptococcus: Production and morphology.  
*Infect. Immun.* 13:189-194, 1976.
- 14.- Baker C.J., D.F. Clark and F.F. Barnett.  
Selective broth medium for isolation of Group B Streptococci.  
*Appl. Microbiol.* 26:884-885, 1973.
- 15.- Baker C.J., D.L. Kasper, I.B. Tager, A. Paredes, S. Alpert, F.K. McCormack and D. Goroff.  
Quantitative determination of antibody to capsular polysaccharide in infection with type III strains of Group B Streptococcus.  
*J. Clin. Invest.* 59:810-818, 1977.
- 16.- Baker C.J., D.K. Goroff, S.L. Alpert, C. Hayes and W.-E. McCormack.  
Comparison of bacteriological methods for the isolation of Group B Streptococcus from vaginal cultures.  
*J. Clin. Microbiol.* 4:46-48, 1976.
- 17.- Baker C.J., F.F. Barrett and M.D. Yow.  
The influence of advancing gestation on Group B Streptococcal colonization in pregnant women.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 122:820-823, 1975.
- 18.- Baker C.J., B.J. Webb, D.L. Kasper, M.D. Yow and C. Beachler.  
The natural history of Group B Streptococcal colonization in the pregnant women and her offspring.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 137:39-42, 1980.
- 19.- Baker C.J. and D.L. Kasper.  
Correlation of maternal antibody deficiency with susceptibility to neonatal Group B Streptococcal infection.  
*New Eng. J. Med.* 294:753-756, 1976.

- 20.- Bascom F.A. and H.F. Concepcion.  
Group B Streptococcus in a General Hospital.  
*J. Inf. Dis.* 132:561-567, 1975.
- 21.- Bascom F.A.  
Immunity to the Group B Streptococci: interaction of -  
serum and macrophages with types Ia, Ib and Ic.  
*J. Exp. Med.* 143:1186-1196, 1976.
- 22.- Bascom F.A. and D.M. Okada.  
The emergence of Group B Streptococci in infections of  
the newborn infants.  
*Ann. Rev. Med.* 28:355-69, 1977.
- 23.- Bascom F.A., D.H. Okada and C.J. Hobel.  
Epidemiology of the Group B Streptococcus: Maternal and  
nosocomial sources for infant acquisitions.  
*J. Pediatr.* 95:431-436, 1979.
- 24.- Bascom F.A., D.M. Okada and C.J. Hobel.  
Epidemiology of Group B Streptococcus: Longitudinal ob-  
servations during pregnancy.  
*J. Inf. Dis.* 137:524-529, 1978.
- 25.- Bascom F.A., R. Eisenstadt, J. Carter, K.S. Kim and C.  
J. Hobel.  
Genital and intestinal carriage of Group B Streptoco-  
coci during pregnancy.  
*J. Inf. Dis.* 143:761-766, 1981.
- 26.- Bascom F.A.  
Carriage of Group B Streptococci during pregnancy: A -  
puzzler.  
*J. Inf. Dis.* 145:789-793, 1982.
- 27.- Bayer A.S., A.W. Chow, B.F. Anthony and L.B. Guze.  
Serious infections in adults due to Group B Strepto-  
cocci.  
*Am. J. of Med.* 61:498-503, 1976.
- 28.- Beachler C.W., C.J. Baker, D.L. Kasper, D.K. Fleming,-  
B.J. Febb and N.D. Yow.  
Group B Streptococcal colonization and antibody status  
in lower socioeconomic parturient women.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 133:171-172, 1979.
- 29.- Belgaunkar T.K.  
Impetigo neonatorum congenita due to Group B beta-hemo-  
lytic Streptococcus infection.  
*J. Pediatr.* 86:982-983, 1975.
- 30.- *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.*  
8th. Ed., co-ed: R.E. Buchanan and N.E. Gibbons.  
Baltimore: Williams and Wilkins Co. 1974.

- 31.- Bergqvist G., G. Holmberg and V. Vaclacinkova.  
Intrauterine death due to infection with Group B Streptococci.  
*Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 57:127-128, 1978.
- 32.- Bernheimer A.W., R. Linder and L.S. Avigad.  
Nature and mechanism of action of the CAMP protein of Group B Streptococcus.  
*Infect. Immun.* 23:838-844, 1979.
- 33.- Björkem G., K.K. Christensen, P. Christensen and C. -- Schalen.  
Group B Streptococcal meningitis in previously healthy adult males.  
*Scand J. Inf. Dis.* 10:143-145, 1978.
- 34.- Bobbit J.R. and W.J. Ledger.  
Obstetric observations in eleven cases of neonatal sepsis due to the Group B beta-hemolytic Streptococcus.  
*Obstet. Gynecol.* 47:439-442, 1976.
- 35.- Bollgren I., V. Vaclanikova, B. Hurvell and G. Bergqvist.  
Periurethral aerobic microflora of pregnant and non -- pregnant women.  
*Br. Med. J.* 1:1314-1317, 1978.
- 36.- Broughton D.B., W.G. Mitchell, M. Grossman, K. Hadley and M.S. Cohen.  
Recurrence of Group B Streptococcal infection.  
*J. Pediatr.* 89:183-184, 1976.
- 37.- Carey R.  
Can immunoprophylaxis eradicate Group B Streptococcal-disease?  
*Clin. Microbiol Newsletter* 3(9):59-60, 1981.
- 38.- Chretien J.H., C.G. McGinnis, J. Thompson, E. Delaha and V.F. Garagusi.  
Group B beta-hemolytic Streptococci causing pharyngitis  
*J. Clin. Microbiol.* 10:263-266, 1979.
- 39.- Christensen K.K., P. Christensen, L. Flamholz and T. -- Ripa.  
Frequencies of Streptococci of Groups A,B,C,D and G in urethra and cervix swab specimen from patients with -- suspected gonococcal infections.  
*Acta Path. Microbiol. Scand. Sect B*, 82:470-474, 1974.
- 40.- Christensen K.K., K. Dahlander, A. Ekström, N. Svenning sen and P. Christensen.  
Colonization of newborns with Group B Streptococci: Relation to maternal urogenital carriage.  
*Scand. J. Inf. Dis.* 13:23-27, 1981.

- 41.- Christensen K.K., P. Christensen, K. Dahlander, G. -- Fazelius, B. Jacobson and N. Svenningsen.  
Quantitation of serum antibodies to surface antigens of Group B Streptococci types Ia, Ib and III: Low antibody levels in mothers of neonatally infected infants.  
*Scand. J. Inf. Dis.* 12:102-110, 1980.
- 42.- Christensen K.K., K. Dahlander, I. Ingemarsson, H. -- Svenningsen and P. Christensen.  
Relation between maternal urogenital carriage of Group B Streptococci and postmaturity and intrauterine asphyxia during delivery.  
*Scand. J. Inf. Dis.* 12:271-275, 1980.
- 43.- Christensen K.K., P. Christensen, F. Juldorf and L. -- Petersson.  
Rectal colonization with Group B Streptococci: Relation to urogenital carriage.  
*Scand. J. Inf. Dis.* 10:291-293, 1978.
- 44.- Christensen K.K. and P. Christensen.  
Typing of Group B Streptococci from the throat and urogenital tract of females.  
*Scand. J. Inf. Dis.* 10:209-212, 1978.
- 45.- Christensen K.K., T. Rippe, G. Agrup and P. Christensen  
Group B Streptococci in human urethral and cervical specimens.  
*Scand. J. Inf. Dis.* 8:75-78, 1976.
- 46.- Christensen P. and V. Oxelius.  
Quantitation of the uptake of human IgG by some Streptococci Groups A, B, C and G.  
*Acta Path. Microbiol. Scand.* 82:475-482, 1974.
- 47.- Collado M.L., R.R. Krestchmer, I. Becker, A. Guzmán, L. Gallardo and C.M. Lepe.  
Colonization of Mexican pregnant women with Group B Streptococcus.  
*J. Inf. Dis.* 143:134, 1981.
- 48.- Cropp C.B., R.A. Zimmerman, J. Jelinkova, A.H. Auernheiner, R.A. Bolin and B.C. Wyrick.  
Serotyping of Group B Streptococci by slide agglutination microscopy and microimmunodiffusion.  
*J. Lab. Clin. Med.* 84:594-602, 1974.
- 49.- Cumming C.G. and P.H. Ross.  
Carriage of Group B Streptococci in the upper respiratory tract.  
*J. Clin. Pathol.* 34(7):813, 1981.

- 50.- Darling C.L.  
Standardization and evaluation of the CAMP reaction for the prompt, presumptive identification of Streptococcus agalactiae (Lancefield Group B) in clinical material.  
*J. Clin. Microbiol.* 1:171-174, 1975.
- 51.- Davis B.D., R. Dulbecco, H.N. Eisen, H.S. Ginsberg, W. B. Wood.  
*Treatado de Microbiologia.*  
2a. Ed. Salvat Editores. 1980.
- 52.- Davis J.P., L.T. Gutman, H.V. Higgins, S.L. Katz, S.I. Felt and C.M. Wilfert.  
Nasal colonization of infants with Group B Streptococcus associated with intrauterine pressure transducers.  
*J. Inf. Dis.* 138:804-810, 1978.
- 53.- Dillon H.C., M.A. Pass and B. Buchanan.  
Modified method for serological identification of Group B Streptococci.  
*J. Clin. Microbiol.* 7:599-600, 1978.
- 54.- Dillon H.C., E. Gray, M.A. Pass and B.M. Gray.  
Anorectal and vaginal carriage of Group B Streptococci during pregnancy.  
*J. Inf. Dis.* 145:794-799, 1982.
- 55.- Dole M. and L. Sterzen.  
"Natural" CAMP plate inoculated from an infected wound.  
*Clin. Microbiol. Newsletter* 2(13):9, 1980.
- 56.- Easmon C.S.F., A. Tanna, P. Munday and S. Dawson.  
Group B Streptococci--Gastrointestinal organisms?  
*J. Clin. Pathol.* 34:921-923, 1981.
- 57.- Easmon C.S.F., H.J. Hastings, A.J. Clare, B. Bloxham, R. Harwood, R.P. Rivers and J. Stringer.  
Nosocomial transmission of Group B Streptococci.  
*Br. Med. J.* 283:459-461, 1981.
- 58.- Ederer G.H., M. Hermann and B.R. Matsen.  
Rapid extraction method with pronase B for grouping beta-hemolytic Streptococci.  
*Appl. Microbiol.* 23:285, 1972.
- 59.- Edwards M.S., G.V. Jackson and C.J. Baker.  
Increased risk of Group B Streptococcal disease in twins.  
*JAMA* 245:2044-2046, 1981.
- 60.- Eickhoff T.C., J.O. Klein, K. Daly and H. Finland.  
Neonatal sepsis and other infections due to Group B beta-hemolytic Streptococci.  
*New Eng. J. Med.* 271: 1220-1228, 1964.

- 61.- Elola-Glaso A., F. Soriano García y A. Reinlen.  
La hidrólisis del hipurato como método presumptivo para la identificación de estreptococos del Grupo B.  
*Rev. Clin. Esp.* 141:427-428, 1976.
- 62.- Embil J.A., T. Belgaumkar and S.W. MacDonald.  
Group B Beta-hemolytic Streptococci in the female genital tract: A study of four clinic populations.  
*Br. J. Obstet. Gynecol.* 85:783-786, 1978.
- 63.- Embil J.A., T.R. Martin, N.H. Hansen, S.W. MacDonald and F.R. Manuel.  
Group B beta-hemolytic Streptococci in an intramural - neonatal population.  
*Scand. J. Inf Dis.* 10:50-52, 1978.
- 64.- Fallon R.J.  
Group B Streptococci in the newborn.  
*Lancet* 1(8012):651, 1977.
- 65.- Faro S.  
Group B Streptococcus and puerperal sepsis.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 138:1219-1220, 1980.
- 66.- Feigin R.D.  
The perinatal Group B Streptococcal problem: more questions than answers.  
*New Eng. J. Med.* 294:106-107, 1976.
- 67.- Feingold D.S., N.L. Stagg and L.J. Kunz.  
Extracapsular streptococcal infections.  
*New Eng. J. Med.* 275:356-361, 1966.
- 68.- Fenton J.L. and M.H. Harper.  
Evaluation of colistin and nalidixic acid in Todd-Hewitt broth for selective isolation of Group B Streptococci.  
*J. Clin. Microbiol.* 9:167-169, 1979.
- 69.- Ferrieri P., L.W. Hannamaker and J. Nelson.  
Localization and characterization of the hippuricase - activity of Group B Streptococci.  
*Infect Immun.* 7:747-752, 1973.
- 70.- Ferrieri P., E.D. Gray and L.W. Hannamaker.  
Biochemical and immunological characterization of the extracellular nucleases of Group B Streptococci.  
*J. Exp. Med.* 151:56-58, 1980.
- 71.- Ferrieri P., P.P. Cleary and A.E. Seeds.  
Epidemiology of Group B Streptococcal carriage in pregnant women and newborn infants.  
*J. Med. Microbiol.* 10: 103-113, 1977.

- 72.- Ferrieri P. and L.L. Blair.  
Pharyngeal carriage of Group B Streptococci: Detection by three methods.  
*J. Clin. Microbiol.* 6:136-139, 1977.
- 73.- Finch R.G., G.L. French and I. Phillips.  
Group B Streptococci in the female genital tract.  
*Br. Med. J.* 1:1245-1247, 1976.
- 74.- Franciosi R.A., J.D. Knotsman and R.A. Zimmerman.  
Group B Streptococcal neonatal and infant infections.  
*J. Pediatr.* 82:707, 1973.
- 75.- Freimer E.H.  
Type-specific polysaccharide antigens of Group B Streptococci.  
*J. Exp. Med.* 125:381-392, 1967.
- 76.- Fuchs P.C., S.W. MacDonald and J.A. Embil.  
Prevalence of Group B beta-hemolytic Streptococci in the male urethra.  
*Scand J. Infec. Dis.* 12:33-35, 1980.
- 77.- Fuchs P.C., G. Christy and R.N. Jones.  
Multiple-inocula (replicator) CAMP test for presumptive identification of Group B Streptococci.  
*J. Clin. Microbiol.* 7:232-233, 1978.
- 78.- Gardner S.E., M.D. Yow, L.J. Leeds, P.K. Thompson, E.O. Mason and D.J. Clark.  
Failure of penicillin to eradicate Group B Streptococcal colonization in the pregnant woman.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 135:1062-1065, 1979.
- 79.- Gillies R.R., T.C. Dodds.  
*Bacteriology Illustrated.*  
Third Ed., 1973.
- 80.- Gordon J.S. and A.J. Ibarra.  
Incidence, technique of isolation and treatment of Group B Streptococci in obstetric patients.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 126:1023-1026, 1976.
- 81.- Gray B.H., M.A. Pass and H.C. Dillon.  
Laboratory and field evaluation of selective media for isolation of Group B Streptococci.  
*J. Clin. Microbiol.* 9:446-470, 1979.
- 82.- Hagan and Bruner's.  
*Infection diseases of domestic animals.*  
Seventh edition, 1981.

- 83.- Hall R.T., W. Barnes, L. Krishnan, D.J. Harris, P.G. --  
Rhodes, J. Favez and G.L. Miller.  
Antibiotic treatment of parturient women colonized ---  
with Group B Streptococci.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 124:630-634, 1976.
- 84.- Hammersen G., K. Bartholomé, H.C. Opperman, L. Wille -  
and P. Lutz.  
Group B Streptococci: A new threat to the newborn.  
*Europ. J. Pediatr.* 126:189-197, 1977.
- 85.- Hammerschlag H.R., C.J. Baker, S. Alpert, D.L. Kasper,  
I. Rosner, P. Thurston and W.M. McCormack.  
Colonization with Group B Streptococci in girls under-  
16 years of age.  
*Pediatrics* 60:473-475, 1977.
- 86.- Hey D.J., R.T. Hall, V.F. Burry and A.N. Thurn.  
Neonatal infections caused by Group B Streptococci.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 116:43-47, 1973.
- 87.- Hill H.R., M.E. Riter, S.K. Menge, D.R. Johnson and J.  
K. Matsen.  
Rapid identification of Group B Streptococci by Counter  
immunoelectrophoresis.  
*J. Clin. Microbiol.* 1:188-191, 1975.
- 88.- Horn K.A., R.A. Zimmerman, J.D. Knostman and F.T. Meyer  
Neurological sequelae of Group B Streptococcal neonatal  
infection.  
*Pediatrics* 53(4):501-504, 1974.
- 89.- Howard J.B. and G. McCracken.  
The spectrum of Group B Streptococcal infections in in  
fancy.  
*Am. J. Dis. Child.* 128:815-818, 1974.
- 90.- Iams J.D. and W. Sprague.  
Maternal blood group and colonization with the Group B  
Streptococcus.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 130:922-924, 1981.
- 91.- Islam A. and E. Thomas.  
Faecal carriage of Group B Streptococci.  
*J. Clin. Pathol.* 33:1006-1008, 1980.
- 92.- Islam A.  
Rapid recognition of Group B Strptococci.  
*Lancet* 29:256-257, 1977.

- 93.- Islam A.  
Primary carriage sites of Group B Streptococci in pregnant women correlates with serotypes distributions and maternal parity.  
*J. Clin. Pathol.* 34:76-81, 1981.
- 94.- Jacomina A.A., A.H. Korstanje, L.J. Gerards and B.P. - Cats.  
Maternal carriage and neonatal acquisition of Group B-Streptococci.  
*J. Inf. Dis.* 156:800-803, 1982.
- 95.- Jelinkova J.  
Group B Streptococci in the human population.  
*Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 76:127-165, 1977.
- 96.- Jensen H.E. and B.L. Andersen.  
The prevalence of Group B Streptococci in human urogenital secretions.  
*Scand. J. Inf. Dis.* 11:199-202, 1979.
- 97.- Jensen H.E.  
Serotypes of Group B Streptococci in urogenital patient  
*Scand. J. Infect. Dis.* 12:101-104, 1980.
- 98.- Kasper D.L. and C.J. Baker.  
Electron microscopic definition of surface antigens of Group B Streptococcus.  
*J. Inf. Dis.* 139:147-151, 1979.
- 99.- Katzenstein A.L., C. Davis and A. Braude.  
Pulmonary changes in neonatal sepsis due to Group B beta-hemolytic Streptococcus: relation to hyaline membrane disease.  
*J. Inf. Dis.* 133:430-435, 1976.
- 100.- Kenny J.F. and A.J. Zedd.  
Recurrent Group B Streptococcal disease in an infant - associated with the ingestion of infected mother's milk  
*J. Pediatr.* 91:158, 1977.
- 101.- Kirkegaard H.K. and C.R. Fields.  
Rapid slide coagglutination test for identifying and - typing Group B Streptococci.  
*J. Clin. Microbiol.* 6:266-270, 1977.
- 102.- Koly A.E., L.F. Wannamaker and R.H. Krauss.  
Simplified straction procedure for serological grouping of beta-hemolytic Streptococci.  
*Appl. Microbiol.* 28:236, 1974.
- 103.- Koneman, Allen, Dowell & Sommers.  
Color Atlas and textbook of Diagnostic Microbiology.  
J.B. Lippincott Company, 1979.

- 104.- Lancefield R.C. and R.H. Freimer.  
Type-specific polysaccharide antigens of Group B Streptococci.  
*J. Hyg. Camb.* 64:191-202, 1966.
- 105.- Leland D.S., R.C. Lachapelle and F.M. Flodarski.  
Method for rapid detection of Group B Streptococci by-Coagglutination.  
*J. Clin. Microbiol.* 7:323-326, 1978.
- 106.- Lewin E.B. and M.S. Amstey.  
Natural history of Group B Streptococcus colonization-and its therapy during pregnancy.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 139:512-515, 1981.
- 107.- Lloyd D.J., K.E. Scott, K. Aterman, T.K. Belgaumkar, -  
A.J. Worth and V.W. Krause.  
Prevention of Group B beta-hemolytic Streptococcal septicemia in low-birth weight neonates by penicillin administered within two hours of birth.  
*Lancet* 1:712-715, 1979.
- 108.- Lucas A. and C.D. Roberts.  
Group B Streptococci in pooled human milk.  
*Br. Med. J.* 1:919-920, 1978.
- 109.- MacDonald H.E. and A.M.R. Mackenzie.  
Maternal and neonatal colonization with Group B Streptococci in Ottawa.  
*Can. Med. Assoc. J.* 120:1110-1111, 1979.
- 110.- MacDonald S.W., F.R. Manuel and J.A. Embil.  
Localization of Group B beta-hemolytic Streptococci in the female urogenital tract.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 13:57-59, 1979.
- 111.- Manual Bioxón. Medios de cultivo.
- 112.- Mason E.O., P. Wong and F.F. Barrett.  
Evaluation of four methods for detection of Group B -- Streptococcal colonization.  
*J. Clin. Microbiol.* 4:429-431, 1976.
- 113.- Maurer N., C. Thirumoorthi and A.S. Dajani.  
Group B Streptococcal colonization en prepubertal children.  
*Pediatrics* 54:65-67, 1979.
- 114.- McCracken G.M., W.B. Feldman.  
Editorial comment.  
*J. Pediatric* 89:203-204, 1976.

- 115.- Mead P.J. and R.E. Harris.  
The incidence of Group B beta-hemolytic Streptococcus-  
in antepartum urinary tract infections.  
Obstet. Gynecol. 51:412-414, 1978.
- 116.- Merritt K. and H.J. Jacobs.  
Improved medium for detecting pigment production by -  
Group B Streptococci.  
J. Clin. Microbiol. 4:379-380, 1976.
- 117.- Mhalu F.S.  
Streptococcus agalactiae in urinary tract infections.  
Post. Med. J. 53:216-218, 1977.
- 118.- Mhalu F.S.  
Reservoir of Group B Streptococci in women in labour.  
Br. Med. J. 1:812, 1977.
- 119.- Milligan T.W., T.I. Doran, D.C. Streuss and S.J. Mat-  
tingly.  
Growth and amino acid requirements of various strains -  
Group B Streptococci.  
J. Clin. Microbiol. 7:28-33, 1978.
- 120.- Mitchell R.G., J. Guillebaud and D.G. Day.  
Group B Streptococci in women fitted with intrauterine  
devices.  
J. Clin. Pathol. 30:1021-1024, 1977.
- 121.- Niklaison P.M., E. Back, M. Kalin and T. Wodsteen.  
Group B Streptococcal meningitis in children and adults  
Scand. J. Inf. Dis. 8:165, 1976.
- 122.- Paredes A., P. Wong, E.O. Mason, L.H. Taber and F. Ba-  
rrett.  
Nosocomial transmission of Group B Streptococci in a -  
newborn nursery.  
Pediatrics 59:679-682, 1977.
- 123.- Paredes A., P. Wong and H.D. Yow.  
Failure of penicillin to eradicate the carrier state -  
of Group B Streptococcus in infants.  
J. Pediatric 89:191-193, 1976.
- 124.- Pasnick H., P.B. Mead and G.S. Philipp.  
Selective maternal culturing to identify Group B Strep-  
tococcal infection.  
Am. J. Obstet Gynecol. 138:480-484, 1980.
- 125.- Pass H.A., B.H. Gray and S. Khare.  
Prospective studies of Group B Streptococcal infections  
in infants.  
J. Pediatr. 95:437-443, 1979.

- 126.- Pass H.A., S. Khare and H.C. Dillon.  
Twin pregnancies: Incidence of Group B Streptococcal -  
colonization and disease.  
*J. Pediatr.* 97:635-637, 1980.
- 127.- Patterson M.J. and A.B. Hafeez.  
Group B Streptococci in human disease.  
*Bacteriol Rev.* 40:774-792, 1976.
- 128.- Perch B., E. Kjems and J. Henrichsen.  
New serotypes of Group B Streptococci isolated from hu  
man sources.  
*J. Clin. Microbiol.* 10:109-110, 1979.
- 129.- Persson K., B. Bjerre, H. Hansson and A. Forsgren.  
Several factors influencing the colonization of Group-  
B Streptococci -Rectum probably the main reservoir-  
*Scand. J. Inf. Dis.* 13:171-175, 1981.
- 130.- Pliego Castañeda A.  
Propiedades biológicas y estructurales del Estreptoco  
co Grupo A. Tesis  
Facultad de Química. UNAH, 1978.
- 131.- Quirante J., R. Ceballos and G. Cassady.  
Group B beta-hemolytic Streptococcal infections in the  
newborn.  
*Am. J. Dis. Child.* 128:659-665, 1974.
- 132.- Reid T.M.  
Emergence of Group B Streptococci in obstetric and pe  
rinatal infections.  
*Br. Med. J.* 2:533-535, 1975.
- 133.- Roberts K.B.  
Persistent Group B Streptococcus bacteremia without -  
clinical "sepsis" in infants.  
*J. Pediatr.* 88:1059-1060, 1976.
- 134.- Rodney D.D. and G. Adams.  
Relapse during penicillin treatment of Group B Strepto  
coccal meningitis.  
*J. Pediatr.* 89:188-190, 1976.
- 135.- Russell H. and N.L. Norcross.  
The isolation and some physicochemical and biologic pro  
perties of the type III antigen of Group B Streptococci  
*J. Immunol.* 109:90-96, 1972.
- 136.- Sanderson P.J., J. Ross and J. Stringer.  
Source of Group B Streptococci in the female genital -  
tract.  
*J. Clin. Pathol.* 34:84-86, 1981.

- 137.- Schauf V., A. Develkis, L. Riff and A. Serota.  
Antibiotic-killing Kinetics of Group B Streptococci.  
*J. Pediatr.* 89:194-198, 1976.
- 138.- Schreiner R.L., T. Coates and P.G. Shackelford.  
Possible breast milk transmission of Group B Streptococcal infection.  
*J. Pediatr.* 91:159, 1977.
- 139.- Shigeoka A.O., R.T. Hall and H.R. Hill.  
Strain specificity of opsonins for Group B Streptococci types II and III.  
*Infect. and Immun.* 23:438-445, 1979.
- 140.- Siegel J.D., G.H. McCracken, N. Threlkeld, B. Milvenan and C.R. Rosenfeld.  
Single-dose penicillin prophylaxis against neonatal -- Group B Streptococcal infections.  
*New. Eng. Med. J.* 303:769-775, 1980.
- 141.- Slack M.P. and R.T. Hayon-White.  
Group B Streptococci in pharyngeal aspirates at birth and the early detection of neonatal sepsis.  
*Arch. Dis. Child.* 53:540-544, 1978.
- 142.- Soriano García F., A. Elola-Olaso, G.L. Gómez Garcés, M.C. Ponte Miramontes y J.H. Ales Reinlen.  
Streptococcus agalactiae (Streptococcus grupo B): Aspectos clínicos y bacteriológicos.  
*Rev. Clin. Esp.* 146:217-220, 1977.
- 143.- Speck W.T., J.H. Driscoll, R.A. Pollin and H.S. Rosenkranz.  
Natural history of neonatal colonization with Group B Streptococci.  
*Pediatrics* 60:356-359, 1977.
- 144.- Steere A.C., R.C. Aber, L.D. Warford, K.E. Murphy, -- J.C. Feeley, P.S. Hayes and H.F. Wilkinson.  
Possible nosocomial transmission of Group B Streptococci in a newborn nursery.  
*J. Pediatr.* 87:784-787, 1975.
- 145.- Steigman A.J., E.J. Botton and B.A. Hanna.  
Does intramuscular penicillin at delivery prevent Group B beta-hemolytic streptococcal disease of newborn infant?  
*J. Pediatr.* 87:496-497, 1975.
- 146.- Stewardson-Krieger P.B., K. Albrandt, T. Nevin, R.R. - Kretschmer and S.P. Gotoff.  
Perinatal immunity to Group B beta-hemolytic Streptococcus type Ia.  
*J. Inf. Dis.* 136:649-654, 1977.

- 147.- Stokes E.J. and S. Mehtar.  
Group B Streptococci at a London Hospital.  
*Lancet* 2(8045):983, 1977.
- 148.- Streptex Manual. Microbiological reagents.
- 149.- Stringer J. and W.R. Haxted.  
Phage typing of Group B Streptococci.  
*Lancet* 1:328, 1979.
- 150.- Stringer J.  
The development of a phage-typing system for Group B -  
Streptococci.  
*J. Med. Microbiol.* 13:133-143, 1980.
- 151.- Szilagyi G., E. Mayer and A.I. Eidelman.  
Rapid isolation and identification of Group B Strepto-  
cocci from selective broth medium by slide Co-aggluti-  
nation test.  
*J. Clin. Microbiol.* 8:410-412, 1978.
- 152.- The Lancet. Editorial.  
Neonatal infection with Group B Streptococci.  
*July 25:181-182, 1981.*
- 153.- Topley and Wilson.  
Principles of Bacteriology and Immunity.  
5a. Ed., 1964.
- 154.- Troug W.E., R.F. Davis and G.G. Ray.  
Recurrence of Group B Streptococcal infection.  
*J. Pediatr.* 89:185-186, 1976.
- 155.- Vega Ramos J., P. García Hierro, F. Soriano García y -  
J.M. Ales Reinlen.  
Investigación de la colonización vaginal por Streptoco-  
ccus Grupo B. Importancia del sistema de transporte de  
las muestras y medios de aislamiento.  
*Rev. Clin. Esp.* 155:297-299, 1979.
- 156.- Vollman J.H., W.L. Smith, E.T. Ballard and I.J. Light.  
Early onset Group B Streptococcal disease: Clinical --  
roentgenographic and pathologic features.  
*J. Pediatr.* 89:199-202, 1976.
- 157.- Watkins S.A.  
Evaluation of rapid methods of identifying Group B ---  
Streptococci.  
*J. Clin. Pathol.* 33:302-305, 1980.
- 158.- Wald E.R., H.J. Snyder and R.L. Gutherlet.  
Group B beta-hemolytic Streptococcal colonization.  
*Am. J. Dis. Child.* 131:178-180, 1977.

- 159.- Falker S.H., A.Q. Santos and B.A. Quintero.  
Recurrence of Group B III Streptococcal meningitis.  
*J. Pediatr.* 89:187-180, 1977.
- 160.- Fennestron D.E. and R.F. Schutt.  
Adult mice as a model for early onset Group B Streptococcal disease.  
*Infect. Immunol.* 19:741-744, 1978.
- 161.- Filkinson H.F., R.R. Facklam and E.C. Northam.  
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.
- 162.- Filkinson H.F., L.G. Thacker and R.R. Facklam.  
Non-hemolytic Group B Streptococci of human, bovine, and ichtyc origin.  
*Infect. Immun.* 7:496-498, 1973.
- 163.- Filkinson H.F.  
Immunochemistry of purified polysaccharide type antigens of Group B Streptococcal types Ia, Ib, and Ic.  
*Infect. Immun.* 11:845-852, 1975.
- 164.- Filkinson H.F. and H.D. Moody.  
Serological relationships of type antigens of Group B Streptococci.  
*J. Bacteriol.* 97:629-634, 1969.
- 165.- Filkinson H.F.  
CAMP-disk test for presumptive identification of Group B Streptococci.  
*J. Clin. Microbiol.* 6:42-45, 1977.
- 166.- Filkinson H.F.  
Nontypable Group B Streptococci isolated from human sources.  
*J. Clin. Microbiol.* 6:183-184, 1977.
- 167.- Filkinson H.F.  
Analysis of Group B Streptococcal types associated with disease in human infants and adults.  
*J. Clin. Microbiol.* 7:176-179, 1978.
- 168.- Filkinson H.F.  
Group B Streptococcal infection in humans.  
*Ann. Rev. Microbiol.* 32:41-57, 1978.
- 169.- Filkinson H.F.  
Pathogenesis and identification of Streptococci.  
*Clin. Microbiol Newsletter* 1(9):1-4, 1979.

- 170.- Food E.G. and H.G. Dillon.  
A prospective study of Group B Streptococcal bacteri-  
uria in pregnancy.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 140:515-520, 1981.
- 171.- Yow H.D., L.J. Leeds, P.K. Thompson, E.O. Mason, D.J.-  
Clark and G.F. Beachler.  
The natural history of Group B Streptococcal coloniza-  
tion in the pregnant woman and her offspring.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 137:34-36, 1980.
- 172.- Yow H.D., E.O. Mason, L.J. Leeds, P.K. Thompson, D.J.-  
Clark and S.E. Gardner.  
Ampicillin prevents intrapartum transmission of Group-  
B Streptococcus.  
*JAMA* 241:1245-1247, 1979.
- 173.- Zavanek S.M., E.M. Ayoub, H. Baer, A.C. Cruz and W.N.-  
Spellacy.  
Cyclic variation in the adherence of Group B Streptoco-  
cci to human vaginal epithelial cells.  
*Am. J. Obstet. Gynecol.* 140:381-385, 1981.