



Universidad Nacional del Nordeste
Facultad de Medicina

Carrera de Especialización en Bacteriología Clínica
Trabajo Final Integrador

***Prevalencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* en embarazadas entre
35 y 37 semanas de gestación en pacientes del Laboratorio Regional de
Bacteriología, Machagai***

Alumna: Mónica Vollmann
Director: Luis Antonio Merino

2.018

Machagai, Chaco

INTRODUCCIÓN

La bacteria

Streptococcus agalactiae o *Streptococcus* β -hemolítico del Grupo B (SGB) es una bacteria Gram positiva, anaeróbica facultativa, catalasa y oxidasa negativa, que se presenta formando cadenas de longitud variable y vive de manera saprófita en los tractos gastrointestinal y genitourinario del ser humano [1].

Este patógeno puede encontrarse como parte de la microbiota natural sin causar enfermedad en el aparato digestivo y genitourinario en un 30% de los adultos incluyendo las mujeres embarazadas [2].

Patologías

GBS produce una variedad de infecciones en humanos como osteomielitis, bacteriemias, endocarditis, neumonías, infecciones de piel e infecciones de tejidos de partes blandas en pacientes con el sistema inmunológico alterado como los diabéticos, cirróticos, dializados y otros [3], además de ser causante de infecciones invasivas en niños recién nacidos, y es cada vez más reconocido como patógeno en poblaciones adultas incluyendo ancianos, diabéticos y mujeres embarazadas [4].

Esta bacteria sigue siendo un importante agente infeccioso en perinatología; considerándose la bacteria predominante en el inicio precoz de sepsis neonatal que puede ser adquirido durante el parto o en el útero por transmisión de la mucosa materno-vaginal o por colonización anorrectal [5]. En este proceso infeccioso la prematuridad es también un factor de riesgo, y la mortalidad aumenta en recién nacidos prematuros; las tasas de colonización materna reportadas son bastante variables, pero generalmente oscilan entre el 20-30%. Por lo tanto las diferencias en las tasas de colonización dependen de la población y los métodos de laboratorio utilizados para detectar e identificar el patógeno [6].

La transmisión del microorganismo de madre a hijo se produce en 40 a 73% de las pacientes con cultivo positivo para GBS y a pesar que no todos los recién nacidos infectados desarrollan una enfermedad grave precoz (sepsis, neumonía, meningitis), muchos de ellos pueden presentar secuelas neurológicas y por ello es importante desarrollar estrategias de prevención para esta enfermedad, que puede ocurrir como inicio temprano a los 7 días de edad, de aparición tardía de 7 días a 3 meses de edad o tardía >90 días de edad [7].

Profilaxis

La profilaxis durante el embarazo comienza durante el trabajo de parto cuatro horas antes del nacimiento con el suministro de antibióticos, de esta manera se disminuye la incidencia de infecciones neonatales iniciales y es la única medida eficaz actualmente aceptada para interrumpir la transmisión vertical del GBS y evitar la sepsis neonatal [1][8].

Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) recomiendan dos enfoques para identificar a las madres que deben recibir antibióticos intraparto para prevenir procesos infecciosos por GBS [9]. De acuerdo a este reporte, se deben identificar como factores de riesgo importantes a los partos con menos de 37 semanas de gestación, con ruptura de membrana \geq 18 horas y una temperatura intraparto \geq 38°C; también, es necesario realizar un cultivo de hisopado vagino-rectal entre las 35 y 37 semanas de gestación para detectar la colonización de GBS, siendo recomendado la inoculación de los especímenes en un medio de caldo selectivo y subcultivado posteriormente en placas de agar de sangre durante 24 a 48 horas.

En los recién nacidos, la infección por el GBS se relaciona con un título bajo de anticuerpos frente al antígeno específico de tipo de la cepa colonizante. Actualmente, se encuentran en fase experimental el desarrollo de vacunas dirigidas a prevenir la infección neonatal causada por la bacteria, mediante la inmunización activa de las gestantes. Aunque los resultados de algunas de estas vacunas han sido prometedores en estudios realizados en voluntarias, de momento no se encuentran disponibles, y su eficacia en la prevención de la infección en adultos se desconoce [6].

Tratamiento

En cuanto al uso de antimicrobianos, se recomienda administrar al comienzo del trabajo de parto uno de los siguientes tratamientos: a) 2 g de ampicilina i.v., seguidos de 1 g cada 4 h hasta su finalización, y b) 5 MU de penicilina G i.v., seguidos de 2.5 MU cada 4 h, hasta el fin del parto. En caso de alergia a los β -lactámicos, puede utilizarse la clindamicina i.v. o la eritromicina i.v. hasta la conclusión del parto [8].

Diagnóstico microbiológico

Los medios suplementados con sangre o suero favorecen el crecimiento de SGB. Luego de 18-24 hs de incubación en agar sangre, las colonias son de unos 2 mm de diámetro, lisas y rodeadas por un halo de β -hemólisis, aunque existen algunas cepas

no hemolíticas. El empleo de medios selectivos favorece la recuperación del GBS y como agentes selectivos se emplean, gentamicina, ácido nalidíxico-colistina o cristal violeta [10].

Si bien, el Colegio Americano de Ginecólogos y Obstetras (ACOG) recomienda que las muestras obtenidas con hisopos vaginales o ano-rectal, deben ser aislados por crecimiento en un medio de enriquecimiento selectivo denominado Caldo de Todd-Hewitt (LIM), suplementado con Antibióticos, luego debe ser subcultivado en un medio sólido de agar sangre de oveja o carnero (LIM-BAe incubado durante 18 a 24 hs, posterior a este tiempo se puede identificar la presencia del microorganismo, utilizando un agar Ácido nalidixico-Neomicina (NNA) como medio selectivo para GBS, al utilizar el caldo de cultivo se aumenta en un 15% la detección del patógeno en comparación al agar de ácido colistina-nalidíxico (CNA) [10].

De igual manera, el agar cromogénico ChromID Strepto B (STRB; bioMerieux, Inc.) es un medio selectivo y diferenciado recientemente desarrollado para identificación de GBS, este medio de cultivo contiene un sustrato que en presencia de GBS en crecimiento activo, genera colonias rosadas a rojas que se identifican fácilmente. El crecimiento de bacterias de otras especies se inhibe o aparece en otros colores (violeta, azul, o incoloro) Estudios realizados afirman que el medio cromogénico STRB en combinación con caldo LIM, tiene una mayor sensibilidad que el NNA, presentando ciertas ventajas como la facilidad de detectar un cambio de color en este medio, en lugar de buscar débilmente colonias beta-hemolíticas en NNA, y la necesidad de realizar sólo una prueba adicional del medio STRB, existiendo pocas probabilidades de falsos positivos [11] Así mismo, se hace referencia a caldos de cultivo cromogénicos, que por el cambio de color del medio, permiten establecer en un menor tiempo la existencia de crecimiento de *Streptococcus agalactiae*, sin embargo las cepas no hemolíticas de esta bacteria no producen el cambio de color y en caso de resultar negativo, se hace necesario el subcultivo en medio sólido. Es importante resaltar que el caldo de cultivo debe incubarse durante 18-24 horas y como lo recomienda la guía del CDC del año 2010 es necesario subcultivar en agar sangre de carnero al 5% o agar Columbia suplementado con ácido nalidíxico y colistina, o en un agar cromogénico. De igual manera el medio Granada (GM) es un medio específico para detectar cepas de *Streptococcus* β -hemolítico, donde al ser positivas las colonias se colorean de naranja, este método es muy sensible y sencillo, permitiendo así la identificación de GBS en un solo paso dentro de las 24 horas [1]. Sin embargo, existen otras posibilidades que presentan el mismo rendimiento que la metodología citada o

incluso mayor. Fraile et al., demostraron que en el medio de Granada, *S. agalactiae* presenta colonias de color naranja, presentando la misma sensibilidad en muestras vaginales y mayor sensibilidad en muestras vagino-rectales que la metodología propuesta por el CDC. Por otra parte, este medio disminuye el tiempo de informe en al menos 24 horas y también la carga de trabajo del laboratorio, al hacer innecesario el uso de pruebas bioquímicas.

Es importante resaltar, que de los medios de cultivos líquidos, el más utilizado es Tood-Hewitt suplementado con una dupla de antimicrobianos, entre los que se cuentan (Gentamicina 8 µg/mL - Nalidíxico 15 µg/mL), (Nalidíxico 15 µg/mL Colistín 10 µg/mL) y (Gentamicina 8 µg/mL Colistín 10 µg/mL), donde se han encontrado cepas de *S. agalactiae* que son sensibles a una concentración de de 8 µg/mL. A su vez, existen diversos medios sólidos entre los que se pueden mencionar el Agar Tripto-Soya, Agar Columbia, Agar Cerebro-Corazón, todos con el agregado de sangre de carnero al 5%. Existen además medios cromogénicos como el agar Granada, en el cual se siembra directamente el hisopado. Las colonias de *Streptococcus agalactiae* crecen de color rojo-naranja, en este medio.

En un trabajo previo se observó el rendimiento de la prueba AccuProbe GBS (sensibilidad, 90,1%; especificidad, 97,5%) parecía ser menor de lo que había sido en la evaluación previa atribuyéndose a fallas técnicas. El uso del AccuProbe para detección de GBS en cultivos de caldo es más rentable para laboratorios que realizan un volumen relativamente grande de GBS pruebas de cribado [11]. En 1996, Bourbeau et al. (1997) “determinado” que el costo de la AccuProbe es menor al de los cultivos positivos, es un método fiable para detección de GBS. Es necesario que las muestras vaginales y ano-rectales se inoculen en caldo selectivo [12]

De igual manera, se han desarrollado técnicas de biología molecular que incluyen las sondas de ADN y las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos, entre las cuales se pueden mencionar la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). La sensibilidad y especificidad de las técnicas utilizadas varía entre 62,5% y 98,5 % y 64,5% y 99,6% respectivamente. Los mejores resultados se obtienen si se utiliza el caldo de enriquecimiento en lugar realizar las técnicas sobre la muestra. Este factor disminuye el valor agregado de la prueba con respecto a la oportunidad, si se requiere que la muestra se realice al momento del parto. Por el contrario las PCR automatizadas como LigthCycler Strep B (Roche Diagnostics Corporation) y las que se realizan en el GeneXpert® (Cepheid), han demostrado valores de sensibilidad y especificidad del 98,5% y 99,6;% respectivamente al utilizar directamente la muestra tomada del recto y

vagina al momento del parto, al mismo tiempo, la PCR presenta mejor sensibilidad para definir el estado real de colonización en ese momento comparado con la realización del cultivo prenatal, y con la ventaja adicional de poder identificar el estado real de colonización en las embarazadas con parto prematuro o en aquellas que no se haya realizado el cultivo al momento del parto. Si bien esta metodología resulta prometedora, no suelen estar, como métodos diagnósticos, al alcance de los laboratorios en países subdesarrollados. En tal sentido, se siguen aplicando los métodos tradicionales como estándares de diagnóstico [13].

Justificación

Ante la ausencia de datos sobre prevalencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* en las pacientes gestantes de la zona de influencia del Laboratorio Regional de Bacteriología perteneciente a la Región sanitaria II de la provincia de Chaco, se considera necesaria la realización de este estudio, donde se determinará el estado de portación por *Streptococcus agalactiae* en embarazadas entre 35 y 37 semanas de gestación utilizando un medio de cultivo cromogénico.

Hipótesis

La prevalencia de embarazadas portadoras de *Streptococcus agalactiae* en la población a estudiar se encuentra dentro de los valores informados para nuestro país (5-18%).

Objetivo General

Determinar la prevalencia de colonización por *S. agalactiae* en la población de embarazadas de 35-37 semanas de gestación en un laboratorio regional de Bacteriología mediante cultivo de las muestras en medio cromogénico con y sin enriquecimiento previo.

Objetivos Específicos

- Recuperar *S. agalactiae* a partir de muestras obtenidas de mujeres gestantes
- Determinar la utilidad de un medio cromogénico para detectar *S. agalactiae* en embarazadas cuando la muestra es sembrada directamente en dicho medio o después del enriquecimiento en caldo de Todd-Hewitt selectivo

Materiales y Métodos

Diseño metodológico

Se llevó a cabo un estudio observacional, descriptivo, con recolección prospectiva de datos.

Población Estudiada

Se incluyeron 100 mujeres embarazadas cursando entre la semana 35 y 37 de gestación a las cuales se les realizó hisopado ano-rectal y de introito vaginal en el laboratorio Regional de Bacteriología, dependiente de la Red provincial de laboratorios del Chaco y se encuentra en el Hospital Dr Andrés Díaz y Pereyro de la localidad de Machagai.

Para la toma de muestras se utilizaron hisopos de algodón individuales y estériles para un total de 100 muestras ano-rectales y 100 muestras de introito vaginal, las cuales fueron procesadas inmediatamente sin utilizar medio de transporte.

Procesamiento bacteriológico

Las muestras vaginales y ano-rectales fueron sembradas directamente en placas de agar cromogénico chromID Strepto B (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia), este material se incubó en aerobiosis en estufa de cultivo a 37 °C durante 24 horas, al no observarse colonias sospechosas de SGB, durante este plazo la incubación se prolongó por otras 24 hs adicionales. Al mismo tiempo todos los hisopos fueron colocados en un caldo Todd-Hewitt suplementado con 15 µg/ml de ácido nalidíxico y colistina 10 µg/mL e incubaron. Luego de 24 hs se realizaron subcultivos en agar cromogénico chromID Strepto B y se observaron las placas tras una incubación de 24 hs. Las placas que resultaron negativas fueron incubadas por 24 hs más. A las colonias sospechosas se les realizó coloración de Gram y prueba de catalasa para determinar que se trataran de cocos grampositivos y que dieran negativa la prueba de la catalasa; adicionalmente se realizaron las pruebas de crecimiento en bilis e hidrólisis de esculina y por último la prueba de CAMP en agar sangre de carnero utilizando S aureus ATCC 25923.

Análisis de los resultados

Se calculó el porcentaje de resultados positivos obtenidos para los 2 tipos de muestras (vaginales y ano-rectales) y se compararon los resultados obtenidos a partir del cultivo directo en agar cromogénico y el indirecto, con cultivo previo en caldo Todd-Hewitt y subcultivo en agar cromogénico.

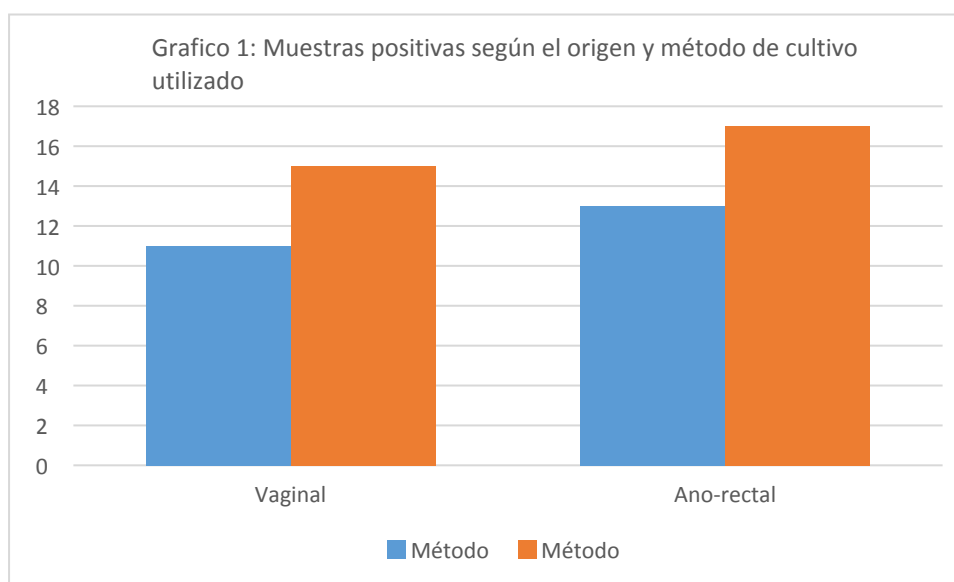
Resultados

Sobre las 100 mujeres estudiadas, en 17 se aisló SGB a partir de uno o ambos tipos de muestras, resultando en una prevalencia de portación del 17%.

Considerando los cultivos que se hicieron directamente en el agar cromogénico, a las 24 horas se obtuvieron 6 muestras positivas para exudados vaginales y 7 positivas para hisopados ano-rectales y posterior a las 48 horas de cultivo, se obtuvo un total de 11 muestras vaginales y 13 ano-rectales positivas.

Luego de la incubación en caldo Todd-Hewitt y posterior subcultivo en agar cromogénico, se obtuvieron 15 resultados positivos en exudados vaginales y 17 en hisopados ano-rectales.

Comparando las dos técnicas de cultivo se logró detectar un incremento del 4% de muestras positivas aplicando el cultivo indirecto en caldo Todd-Hewitt subcultivado en agar cromogénico en comparación al cultivo directo en agar cromogénico para ambos tipos de muestras (vaginales y ano-rectales), según se muestra en el gráfico 1.



Abrev. S/E: sin enriquecer; C/E: con enriquecimiento

Discusión

Los GBS son cocos Gram positivos que forman parte de la flora normal del intestino, desde donde colonizan el tracto genital, aspecto de gran interés en las mujeres embarazadas por la posibilidad de transmisión al recién nacido durante el trabajo de parto [1].

El porcentaje de colonización depende del grupo étnico, área geográfica y de la edad, y se determinó en diferentes estudios epidemiológicos que entre el 10-30 % de las mujeres embarazadas están colonizadas en su tracto genital y en el área ano-rectal [4,13,14].

Se estima, además, que la tasa de transmisión vertical es de 50% y, de éstos recién nacidos colonizados, el 1-2% desarrolla infección clínica, que suele manifestarse en las primeras horas de vida (o aún después de los siete días de vida) como neumonía, sepsis o meningitis, con una mortalidad cercana al 10%, además existe el riesgo de dejar secuelas como; alteraciones visuales, auditivas e incluso mentales [6,15]

También en la mujer, el *Streptococcus agalactiae* puede producir infecciones durante el embarazo y puerperio, causando endometritis post-parto, infección urinaria, infección de la herida quirúrgica post-cesárea, pero en sí es raro que produzca síntomas definidos. Por eso es necesario identificar el estado portador de EGB en muestras genitales de mujeres embarazadas ya que la mayoría de las infecciones neonatales se pueden prevenir a tiempo cuando el riesgo de transmisión al recién nacido es elevado [9].

Según la bibliografía internacional, la prevalencia de *S. agalactiae* en este grupo de mujeres se encuentra entre el 10% y el 40%; en Argentina oscila entre el 5% y el 18%; los resultados obtenidos en esta investigación fueron de 17% para muestras ano-rectales, encontrándose dentro de los rangos estadísticos ya reportados.

En el escenario clínico, una cuestión crítica es el tiempo necesario para obtener resultados fiables de los cultivos, que es de 48 horas cuando se utilizan los métodos recomendado por CDC. El trabajo de parto prematuro y ruptura prematura de las membranas son situaciones de alto riesgo para la sepsis precoz, para los que es adecuada la profilaxis antibiótica intraparto, para estos casos las pruebas de identificación rápida serían más adecuadas, ya que dan resultados fiables e

inmediatos, evitando la prescripción innecesaria de antibióticos, para lo cual el cultivo en caldo Todd- Hewitt es de alta sensibilidad [16].

El caldo selectivo Todd Hewitt es conocido como Gold Standard o *test* de referencia al considerarse la mejor alternativa diagnóstica existente para estudiar e identificar la sensibilidad, especificidad y los valores predictivos de procesos infecciosos. Desde el año 1996, es el medio recomendado por el *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) para detectar estreptococos del grupo B en muestras genitales de mujeres embarazadas. En este medio de enriquecimiento selectivo, se logra que la recuperación de *Streptococcus agalactiae*, aumente hasta un 50 %, disminuyendo las probabilidades de falsos negativos, mientras que la flora acompañante es inhibida por los antimicrobianos [1,17].

Así mismo, en 1996 el CDC, la American Academy of Pediatrics, y el American College of Obstetricians and Gynecologists, publicaron recomendaciones para la prevención de la infección neonatal por EGB, las cuales contemplan dos posibles estrategias: la primera es la realización de cultivos vagino-rectales en todas las mujeres embarazadas, entre las semanas 35 a 37 de gestación, para la detección y portación anogenital de GBS, a las que se les administra profilaxis antibiótica intraparto, y la segunda es la profilaxis empírica a todas las gestantes que presenten factores obstétricos de riesgo [1,11,13,18].

El hecho de recomendar el *test* de *screening* para GBS en mujeres embarazadas, entre las semanas 35 a 37 de gestación, se debe a que la portación es impredecible, y cuanto más cercano al parto se realice, mayor será la correlación con el *status* intraparto. Estudios previos revelan que usando el caldo selectivo recomendado por el CDC para muestras vaginales y ano-rectales, solo el 7,4% de las mujeres con cultivo negativo en la semana 26 y 28 de gestación eran portadoras de *S. agalactiae* al momento del parto. Los datos de más de 5000 mujeres las cuales tuvieron cultivos prenatales para GBS, indican que el 88% de los niños que desarrollaron enfermedad por este patógeno nacieron de madres identificadas prenatalmente como portadoras [1,10,17].

En la mayoría de las investigaciones donde se compara el subcultivo en agar sangre y agar cromogénico, se observa mayor sensibilidad en este último, donde las diferencias son estadísticamente significativas. Una vez cumplido el tiempo de incubación, se revisa el medio de cultivo para verificar si existe crecimiento de colonias sugestivas de *Streptococcus agalactiae*, las cuales en el agar sangre son de un color gris brillante y con β -hemólisis aunque esta es menos intensa que las observadas en los

Streptococcus Grupo A, e incluso puede llegar a estar ausente; en los agares cromogénicos las colonias adquieren un color de acuerdo a la composición específica del medio, de no observarse colonias sospechosas el medio se reincuba por otras 24 horas [13].

Como se señaló anteriormente, es importante tener en cuenta que el aislamiento de *S. agalactiae* en los controles prenatales depende del sitio de búsqueda, del uso de medios selectivos y de enriquecimiento para procesar los cultivos además del número de las semanas de gestación. este trabajo experimental se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del CDC, cultivando las muestras en un caldo selectivo, como el caldo Todd-Hewitt suplementado con colistina (10µg/ml) y ácido nalidíxico (15 µg/ml). Es importantes cultivar los caldos durante 18-24 horas a 35 °C en atmósfera aeróbica o con 5% de CO₂; luego se deben subcultivar en placas con agar sangre de carnero (agar tripticasa soya con 5% de sangre desfibrinada de carnero), las cuales se deben inspeccionar a las 24 horas y, si no se observan colonias sospechosas de *S. agalactiae*, se vuelven a incubar durante 24 horas adicionales [19].

Si bien, el medio selectivo Todd-Hewitt al ser enriquecido con colistina y ácido nalidíxico, inhibe el crecimiento de bacterias Gram negativas y tiene una mayor sensibilidad en comparación con otros medios no selectivos como agar sangre. Posteriormente la identificación final de GBS en todas las muestras se realizó por la prueba CAMP, las cepas beta-hemolíticas, son aquellas que producen una hemólisis total de los glóbulos rojos, observándose como un halo transparente alrededor de las colonias [8].

En concordancia a lo mencionado precedentemente, en el presente trabajo es un 4% más de resultados positivos al usar un enriquecimiento previo en caldo Todd-Hewitt suplementado con antibióticos a la vez que, también en concordancia con publicaciones previas, el hisopado ano-rectal presentó mejor rendimiento que el exudado vaginal solo.

Conclusiones

- La prevalencia de SGB en muestras de embarazadas fue elevada en la población estudiada, y se ubicó dentro del rango informado para nuestro país
- Las muestras previamente enriquecidas en caldo de Todd-Hewitt selectivo resultó ser hasta un 4% más eficiente que el método de cultivo directo en agar cromogénico, este método resulta ser recomendable siempre y cuando se incube hasta 48 horas antes de descartar el material como negativo y se siembren tanto la muestra rectal como la vaginal.

Bibliografía

1. Cortés H. Prevención De La Infección Neonatal Por Estreptococo Del Grupo B, ¿Es Necesaria En Nuestro Medio? Rev Colomb Obstet y Ginecol. 2005;56(3):231–8.
2. Rosen GH, Randis TM, Desai P V., Sapra KJ, Ma B, Gajer P, et al. Group B Streptococcus and the Vaginal Microbiota. J Infect Dis. 2017;216(6):744–51.
3. Di Bartolomeo S, Gentile M, Priore G, Valle S, Di Bella A. Streptococcus agalactiae en embarazadas. Prevalencia en el Hospital Nacional Alejandro Posadas. Rev Argent Microbiol. 2005;37(37):142–4.
4. Adler A, Block C, Engelstein D, Hochner-Celnikier D, Draï-Hassid R, Moses AE. Culture-based methods for detection and identification of Streptococcus agalactiae in pregnant women—what are we missing? Eur J Clin Microbiol Infect Dis . 2008;27(3):241–3. A
5. Nan C, Dangor Z, Cutland CL, Edwards MS, Madhi SA, Cunningham MC. Maternal group B Streptococcus-related stillbirth: A systematic review. BJOG An Int J Obstet Gynaecol. 2015;122(11):1437–45.
6. Baker CJ. The spectrum of perinatal group B streptococcal disease. Vaccine . 2013;31:D3–6.
7. Johri AK, Lata H, Yadav P, Dua M, Yang Y, Xu X, et al. Epidemiology of Group B Streptococcus in developing countries. Vaccine. 2013 Aug;31:D43–5.
8. Vornhagen J, Adams Waldorf KM, Rajagopal L. Perinatal Group B Streptococcal Infections: Virulence Factors, Immunity, and Prevention Strategies. Trends Microbiol . 2017;25(11):919–31.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal Group B streptococcal disease. Vol. 59, MMWR. 2010.
10. Doran KS, Nizet V. Molecular pathogenesis of neonatal group B streptococcal infection: No longer in its infancy. Mol Microbiol. 2004;54(1):23–31.
11. Craven RR, Weber CJ, Jennemann RA, Dunne WM. Evaluation of a chromogenic agar for detection of group B streptococcus in pregnant women. J Clin Microbiol. 2010;48(9):3370–1.
12. Williams-Bouyer N, Reisner BS, Woods GL. Comparison of Gen-Probe AccuProbe Group B streptococcus culture identification test with conventional culture for the detection of Group B streptococci in broth cultures of vaginal-anorectal specimens from pregnant women. Diagn Microbiol Infect Dis. 2000;36(3):159–62.

13. Crespo Ortiz M del P, Henao Giraldo EA, Herrera Jaramillo MH. Colonización por *Streptococcus agalactiae* en mujeres gestantes de los centros de atención de la ESE Norte en Cali. *Cienc Salud*. 2012;1(2):23–31.
14. Scicchitano LM, Bourbeau PP. Comparative evaluation of the AccuProbe Group B streptococcus culture test, the BD GeneOhm Strep B assay, and culture for detection of group B streptococci in pregnant women. *J Clin Microbiol*. 2009;47(9):3021–3.
15. Doran KS, Chang JCW, Benoit VM, Eckmann L, Nizet V. Group B Streptococcal β Hemolysin/Cytolysin Promotes Invasion of Human Lung Epithelial Cells and the Release of Interleukin8. *J Infect Dis*. 2002;185(2):196–203.
16. Stender H, Williams B, Coull JM. PNA fluorescent in situ hybridization (FISH) for rapid microbiology and cytogenetic analysis. *Methods Mol Biol*. 2014;1050:167–78.
17. Liu GY, Doran KS, Lawrence T, Turkson N, Puliti M, Tissi L, et al. Sword and shield: linked group B streptococcal beta-hemolysin/cytolysin and carotenoid pigment function to subvert host phagocyte defense. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(40):14491–6.
18. De La M, Fraile R, De Cueto López M. *Streptococcus agalactiae*. Características generales . Barcelona, España; 1997. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/agalac.pdf>
19. Montibello S, Guelfand I, Machaín M, Carrión N, Ferreira M, Pidone J, et al. Optimización de metodologías de cribaje para la búsqueda de *Streptococcus agalactiae* en embarazadas. *Rev Argent Microbiol*. 2011;3(3).