

UNIVERSIDAD
DE
GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

"ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS Y MICROBIOLOGIA
DE LA INFECCION POR *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EN
ADULTOS"

Marina de Cueto Lopez.
Granada, 1.989.

UNIVERSIDAD DE GRANADA

ACTA DEL GRADO DE DOCTOR EN

Medicina

Curso de 19 88 a 19 89

Folio 61 etc

Número 123

Reunido en el día de la fecha el Tribunal nombrado para el Grado de Doctor de D. Mariana de Puerto López, el aspirante leyó un discurso sobre el siguiente tema, que libremente había elegido: Aspectos epidemiológicos y microbiología de la infección por Streptococcus Agalactiae en adultos

Terminada la lectura y contestadas la objeciones formuladas por los Jueces del Tribunal, este le calificó de Apto con laude

Granada 19 de Septiembre de 19 89

EL PRESIDENTE,

El Secretario del Tribunal,

Fdo:

Fdo:

EL VOCAL,

EL VOCAL,

EL VOCAL,

Fdo:

Fdo:

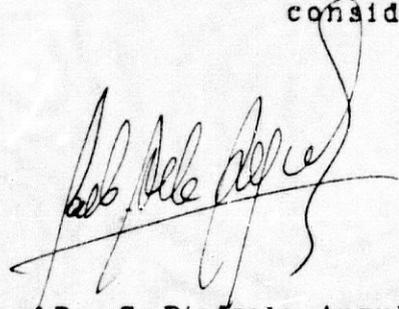
Fdo:

FIRMA DEL GRADUANDO,

microbiología

EL PROFESOR DR. DON GONZALO PIEDROLA ANGULO, CATEDRA-
TICO DE MICROBIOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA
UNIVERSIDAD DE GRANADA. Y EL DR. DON MANUEL DE LA ROSA
FRAILE, JEFE DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA DE LA CIUDAD
SANITARIA VIRGEN DE LAS NIEVES DE GRANADA, - - - -

CERTIFICAN: Que la tesis doctoral que presenta al supe-
rior Juicio del Tribunal que designe la Fa-
cultad de Medicina de la Universidad de Grana-
da Doña Marina de Cueto Lopez sobre el tema
"ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS Y MICROBIOLOGIA DE
LA INFECCION POR *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*
EN ADULTOS", ha sido realizada bajo nuestra
direccion en condiciones que la hacen acreedo-
ra del titulo de Doctor, siempre que asi lo
considere el citado Tribunal. - - - -



Fdo. Prof. Dr. G. Piedrola Angulo



Fdo. Dr. M. de la Rosa Fraile

A mis padres y
a Fran.

Es un honor y una satisfacción personal mencionar, antes de iniciar el desarrollo de este trabajo, a todos aquellos que con su ayuda lo han hecho posible y a los que quiero expresar mi más sincero agradecimiento:

Al Profesor Dr. D. Gonzalo Piédrola Angulo, Catedrático de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, que me inició en el conocimiento de la Microbiología durante mis años de formación en la licenciatura de Medicina, y que ahora ha llevado la dirección de esta Tesis; sus consejos y su interés han facilitado mi labor en la realización de la misma.

Al Doctor D. Manuel de la Rosa Fraile, Jefe del Servicio de Microbiología de la Ciudad Sanitaria "Virgen de las Nieves" de Granada, Director de esta Tesis, por haberme enseñado una forma de trabajo seria y rigurosa, por su confianza al introducirme en una línea de trabajo iniciada por él y por haber contado en todo momento con su inestimable ayuda y su apoyo incondicional, que ha hecho posible que se realizara este trabajo.

A los Doctores Llosá Durá, Martínez Brocal, Mendoza Montero, Navarro Marí, Peis Serrano y Dra Miranda Casas, todos ellos del Servicio de Microbiología de la Ciudad Sanitaria "Virgen de las Nieves", por su ejemplo de buen hacer en el trabajo diario, por ofrecerme sus conocimientos y su ayuda, siempre.

A mis compañeros y amigos los Dres Hernandez Molina y Leiva León por el apoyo que siempre me prestaron.

A todo el personal del Servicio de Microbiología de la C. S. Virgen de las Nieves: Residentes, Personal de Enfermería, Técnico y Auxiliar que han colaborado de forma totalmente desinteresada en la realización de este trabajo.

Muchas otras personas me han ayudado y apoyado y aunque no es posible nombrarlas aquí, todos cuentan con mi gratitud y afecto: sin embargo quiero mencionar a mi familia y a mis amigos que me han soportado durante todo este tiempo, no siempre fácil y de forma especial a mi hermano Epi por su ayuda en la escritura de esta Tesis.

A todos muchas gracias.

I N D I C E

	PÁG.
1.- INTRODUCCION: REVISION Y ESTADO ACTUAL.....	4
<hr/>	
1.1 - ASPECTOS GENERALES DEL SIBERIOCOCCUS AGALACIAE..	4
1.1.1.- Nomenclatura.....	4
1.1.2.- Historia.....	4
1.1.3.- Bacteriología.....	7
1.1.4.- Colonización.....	18
1.1.5.- Factores de virulencia.....	22
1.1.6.- Infección.....	27
1.1.7.- Inmunidad.....	37
1.2 - DIAGNOSTICO DE LA INFECCION POR S. AGALACIAE....	38
1.3 - TRATAMIENTO.....	39
1.4 - PROFILAXIS.....	43
2.- OBJETIVOS.....	46
<hr/>	
3.- MATERIAL Y METODOS.....	47
<hr/>	
3.1.- DESCRIPCION DEL MATERIAL ESTUDIADO.....	47
3.1.1.- Epidemiología.....	47
3.1.2.- Clínica.....	48
3.1.3.- Cepas bacterianas.....	49
3.2.- MICROBIOLOGIA.....	50

3.2.1.- Medios de cultivo y consevación de ce-- pas.....	50
3.2.2.- Selección de las colonias de EGB.....	52
3.2.3.- Identificación de EGB.....	52
3.2.4.- Sistemas con baterias de pruebas.....	55
3.2.5.- Serotipos.....	59
3.3.- ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIOTICOS.....	60
3.3.1.- C.M.I.	60
3.3.2.- C.M.B. Tolerancia.....	61
3.4.- ADHESIVIDAD A CELULAS EPITELIALES.....	62
3.5.- METODOS ESTADISTICOS.....	64
4.- RESULTADOS.....	65

4.1 - ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO.....	65
4.2 - ESTUDIO CLINICO.....	71
4.2.1.- Infecciones del tracto urinario (ITU)..	75
4.2.1.1.- ITU en gestantes.....	75
4.2.1.2.- ITU en mujeres no gestantes.....	81
4.2.1.3.- ITU en varones.....	87
4.2.2.- Infecciones de heridas quirúrgicas.....	89
4.2.3.- Infecciones en pacientes con patología vascular.....	96

4.2.4.- Infecciones genitales en varones.....	101
4.2.5.- Infecciones graves.....	105
4.3 - CEPAS BACTERIANAS.....	110
4.3.1 - Pruebas bioquímicas.....	110
4.3.2 - Sistemas con baterías de pruebas.....	111
4.3.2.1 - API. 20 Strep.....	111
4.3.2.2 - Sceptor MIC/ID. panel.....	113
4.3.2.3 - Vitek.....	114
4.3.3.- Serotipos.....	117
4.4 - SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIOTICOS.....	119
4.4.1 - C.M.I.	119
4.4.2 - C.M.B. Tolerancia.....	122
4.5 - ADHESIVIDAD.....	124
5.- DISCUSION.....	127
6.- CONCLUSIONES.....	145
7.- BIBLIOGRAFIA.....	147

I N T R O D U C C I O N

1.1 - ASPECTOS GENERALES DEL *S. AGALACTIAE*.

1.1.1 - Nomenclatura.

El término "Estreptococo grupo B" (EGB) se emplea para designar al *Streptococcus agalactiae*, (Grupo B de Lancefield), una especie bacteriana perteneciente al género *Streptococcus*. La denominación de especie fue dada por Lehmann y Neuman en 1896 y desde 1954 es la aceptada oficialmente (89), desapareciendo otros sinónimos que hasta entonces habían venido utilizándose como *S. nocardii*, *S. mastitis contagiosae*, *S. mastitis sporadicae*, *S. agalactiae contagiosae*, *S. mastitidis* (101).

Como la identificación serológica del *S. agalactiae* se realiza rutinariamente, la designación como "EGB" es la que generalmente se utiliza.

1.1.2 - Historia.

Nocard y Mollerau describieron por primera vez en 1887 estreptococos con propiedades que se corresponden con EGB, aislados, en ganado bovino con una forma de mastitis contagiosa (152).

Schottmüller en 1903 definió las diferentes clases de hemólisis producida por estreptococos en agar sangre y en 1919, Brown observó que tanto las cepas de origen humano como bovino pertenecían al tipo beta-hemolítico. En 1922

Ayers y Rupp caracterizaron al EGB por su capacidad para hidrolizar hipurato de sodio (91,103,152). En 1933 Lancefield clasificó los estreptococos en grupos serológicos, en base al antígeno carbohidrato de la pared celular; tras extracción de los antígenos grupo específicos con CIH e identificación por reacción de precipitación con antisueros específicos (106,152), y demostró que las cepas patógenas de origen humano pertenecían al grupo A mientras que las aisladas de origen animal pertenecían al grupo B.

En 1934 Lancefield, describió tres serotipos de EGB: I, II y III, según el antígeno polisacárido tipo específico, cuatro años más tarde dividió el serotipo I en Ia y Ib (91,152).

Pattison, Matthews y Maxted en 1955 añadieron al perfil serológico de EGB dos nuevos antígenos proteicos: R y X (91,152). Wilkinson en 1971 describió un tercer antígeno proteico que denominó Icp o Ic, este antígeno se encuentra frecuentemente en cepas de los tipos Ia y Ib y define el tipo Ic (cepas que poseyendo el antígeno polisacárido Ia contienen además el antígeno proteico Ic) (32,180). El serotipo IV fue descrito en 1979 por Perch (144).

Hasta 1935 EGB fue considerado como microorganismo saprófito de vagina y cervix y es a partir de esta fecha cuando aparecen las primeras descripciones de casos clínicos que le implican como patógeno humano. Colebrook y Purdie describieron en 1937 el aislamiento de EGB de sangre en un caso de sepsis puerperal y Fry en 1939 lo aisló en

tres casos mortales de infección postparto (54,152).

Brown en 1939 presenta por primera vez al EGB como patógeno neonatal, en tres casos mortales en los que se aisló EGB en sangre.

En 1941 Plummer, y en 1944 Foley, recogen los primeros casos de meningitis en recién nacidos causados por EGB (54).

Desde 1958 infecciones por EGB se han documentado cada vez con mayor frecuencia en todo el mundo y en los últimos años EGB ha llegado a ser, en muchos países, la causa más frecuente de infecciones graves en el periodo perinatal (14,75,79).

Las razones que justifican este aumento en la incidencia de la infección por EGB no están claras aunque se han señalado entre otras: mejoría en las técnicas diagnósticas, disminución de la mortalidad perinatal y disminución de la incidencia de otras infecciones (62,63,126).

Paralelamente a este aumento de la implicación de EGB en patología infecciosa perinatal, se han descrito infecciones en adultos, sobre todo, en embarazadas, inmunodeprimidos, hospitalizados, o en circunstancias que les hacen más susceptibles a la infección; así se han descrito casos de infecciones urinarias bajas, pielonefritis, bacteriemia, artritis, endocarditis, meningitis en adultos, osteomielitis, peritonitis, neumonía e infecciones de partes blandas (30,67,114,116,127,138,172).

1.1.3. Bacteriología.

- Propiedades bioquímicas.

EGB son cocos Gram positivos, catalasa y oxidasa negativos, anaerobios facultativos, inmóviles que se presentan formando cadenas de longitud variable. Tras 18h-24h de incubación, en agar sangre, las colonias tienen unos 2 mm de diámetro, son lisas, de bordes enteros y rodeadas por una zona de beta hemólisis (89); sólo 2%-3% de las cepas son no hemolíticas (143).

Crece en caldo 6'5% ClNa y la mayoría de las cepas en agar bilis 40%; no hidrolizan esculina y sí el hipurato de sodio (99'6%) (68,76,91).

EGB produce ácido de glucosa, maltosa y sacarosa, y casi todas las cepas, también, de trehalosa y glicerol.

La capacidad para producir ácido de lactosa, se ha indicado, que es característica de las cepas de origen animal y sólo 5%-6% de las cepas de origen humano la presentan, sin embargo esta propiedad la pueden adquirir por pases sucesivos en un medio que contenga lactosa (103).

El 80% de las cepas producen hialuronidasa (76,113).

La prueba CAMP, para identificación presuntiva de EGB fue descrita en 1944 por Christie, Atkins y Munch-Petersen (121). El factor CAMP es una proteína extracelular que aumenta la actividad hemolítica de la beta hemolisina estafilocócica (esfingomielinasa C) sobre hematies de carnero.

La prueba se realiza sembrando en estria la cepa de *Staphylococcus aureus* y perpendicular a ella la siembra de

EGB, de esta forma, una reacción positiva se presenta como una zona de hemólisis en cabeza o punta de flecha en el punto en que convergen ambos microorganismos. Esta reacción también se ha demostrado, utilizando el sobrenadante de cultivos de las dos especies bacterianas (169).

El "spot" CAMP test es una prueba rápida que emplea discos impregnados con hemolisina estafilocócica para la identificación de colonias sospechosas de EGB, apareciendo en 10'-30' un arco de hemólisis similar al que se observa en la prueba clásica (55).

El 5% aproximadamente de las cepas dan una prueba CAMP negativa, aunque, las cepas no hemolíticas, habitualmente dan reacción positiva ya que no existe relación entre este factor y la hemolisina estreptocócica (76,91).

La reacción denominada "reverse CAMP" se ha empleado en la identificación presuntiva de *Clostridium perfringens*, aquí, el factor CAMP producido por EGB al actuar sobre los hematies previamente sensibilizados por la lecitinasa del *C. perfringens* produce una zona amplia de hemólisis beta alrededor de la colonia sospechosa (76).

En medios que contienen almidón, EGB produce después de 24h-48h de incubación en anaerobiosis un pigmento de color naranja, un beta-caroteno. Esta característica, que es específica del EGB, permite su rápida identificación (99,131,132,139). Estas condiciones favorecen la producción de pigmento aunque, no son esenciales. Sin embargo mientras que en medios como Islam (99) o Granada (151) que incluyen almidón entre sus componentes el 96% de las cepas

aparecen pigmentadas, en agar Columbia sólo el 85% presentan pigmentación (69,148,151,175).

Las cepas no hemolíticas no producen pigmento (99,131,132).

EGB es capaz de utilizar la timidina presente en los medios de cultivo y anular el bloqueo de la vía del ácido fólico por lo que aparece resistente al trimetoprim - sulfametoxazol (SXT). este, es un criterio que se ha utilizado en la identificación presuntiva de EGB (46,68,87).

Estos inhibidores del folato, TMP y SDZ, incorporados al medio de cultivo y en condiciones de anaerobiosis aumentan la producción de pigmento por EGB (151,168).

El efecto del pH del medio sobre la producción de pigmento es, así mismo importante, siendo el pH óptimo de 7.4 (69,139,151), es por esto que la presencia de glucosa en los medios de cultivo tiene efecto inhibitorio sobre la producción de pigmento dada la caída del pH que se produce al desarrollarse EGB en estos medios (132,168).

El pigmento de EGB es una mezcla de diversos carotenos, que se producen en proporción variable dependiendo del medio y las condiciones de cultivo, y su papel en EGB aparece relacionado con su capacidad para resistir la acción fagocítica de los polimorfonucleares (131).

- Estructura antigenica.

EGB presenta un antígeno polisacárido, específico de grupo, común a todas las cepas de este serogrupo y un

antígeno tipo específico, también de naturaleza polisacáridica que permite su clasificación en cinco serotipos: Ia, Ib, II, III y IV. El tipo Ic, descrito por Wilkinson en 1971 (160), posee el antígeno polisacárido capsular Ia y un antígeno proteico denominado Ibc que es común al tipo Ib.

El 40% de las cepas tipo II presentan el antígeno Ibc y ocasionalmente puede presentarlo el serotipo III; sin embargo no aparece en los tipos Ia (32).

Un determinante antigénico menor, polisacárido, Iabc es común del serotipo I.

En la tabla I se detallan los determinantes antigénicos de EGB.

Antígeno polisacárido grupo específico.

Es un carbohidrato compuesto de rhamnosa, glucosamina, galactosa, glucitol y fosfato, en una relación de 3:1:1:1. La rhamnosa es el principal determinante antigénico, lo que explica las reacciones cruzadas que a veces se presentan entre estreptococos de los grupos B y G.

Los anticuerpos inducidos por este antígeno no confieren inmunidad (52,64,106,152).

Antígenos tipo específicos Ia, Ib, II, III

Estos antígenos tipo específicos son polímeros compuestos de galactosa, glucosa, glucosamina y ácido siálico en una proporción 3:2:1:1, en el tipo II (106,152, 73) y 2:1:1:1 en todos los demás (52,105). El ácido siálico

parece ser un factor de virulencia de EGB responsable de la invasión meníngea en el neonato (57,160), sin embargo, está presente en todos los serotipos, y es el III el que con mayor frecuencia produce esta patología (14).

Todos los antígenos tipoespecíficos inducen la formación de anticuerpos protectores (27,43,52,64)

El antígeno tipo IV no ha sido aún bioquímicamente caracterizado.

TABLA I: Determinantes antigénicos de EGB.

Serotipo	Antígeno polisacárido		Antígeno proteico	
	Mayor	Menor		
Ia	Ia	Iabc	-	
Ib	Ib	Iabc	Ibc*	-
Ic**	Ia	Iabc	Ibc	-
II	II	-	(Ibc)	(R)
III	III	-	(Ibc)	R
IV	IV	-	(Ibc)	(R)

*La nomenclatura propuesta para Ibc es Ic (64)

**La designación propuesta es Ia/c

() Sólo presente en algunas cepas

Antígeno carbohidrato Iabc

Es un antígeno común a todas las cepas tipo I y da lugar a aparición de anticuerpos protectores (152).

Antígeno proteico Ibc o Ic

Inicialmente descrito como antígeno proteico de los tipos Ib y Ic (180), se puede encontrar en los tipos II, III y IV por lo que se ha propuesto cambiar su designación a "c" (32,106).

Antígenos proteicos R y X

Pueden aparecer solos o en combinación con los antígenos polisacáridos II (51%) o III (87%) (44).

En modelos animales los anticuerpos anti-R son protectores frente al tipo II pero no protegen frente a las cepas tipo III que portan este antígeno (152).

La proteína X aparece sólo en cepas aisladas de reservorios animales (103).

Fagotipia

Stringer, presentó en 1980 (59, 65) un sistema de fagotipos para EGB con 24 fagos que permitían el tipaje de más del 75% de los aislados clínicos. Algunos patrones de fagos se asociaron frecuentemente con determinados serotipos. La fagotipia de EGB únicamente se ha utilizado en investigaciones epidemiológicas.

Estructura celular

Como en todas las bacterias gram-positivas el peptidoglicano es el principal constituyente de la pared celular. Por microscopía electrónica se ha demostrado que el antígeno carbohidrato grupo específico esta presente en la superficie externa e interna de la membrana celular. El antígeno proteico se localiza en la cara externa de la pared y se dispone en estructuras filamentosas de longitud variable. Los antígenos polisacáridos tipo específicos se disponen a modo de cápsulas recubriendo completamente al grupo carbohidrato. Los antígenos proteicos protuyen a través de la cápsula (106).

- Medios de cultivo.

EGB es un microorganismo con pocos requerimientos nutritivos y puede desarrollarse en medios relativamente simples, no enriquecidos. Los medios suplementados con sangre, suero o glucosa favorecen el crecimiento que ya puede observarse despues de 18h-24h de incubación en aero o anaerobiosis a 35-37°C. (68,69).

El uso de medios selectivos favorece el aislamiento de EGB y su empleo es necesario, sobre todo, en estudios epidemiológicos.

Baker en 1973 (15), presentó un medio de caldo, selectivo para EGB que contenía sulfato de gentamicina 8

ugr./ml. y ácido nalidíxico 15 ugr./ml. como sustancias selectivas. Posteriormente se han empleado concentraciones menores de gentamicina, que resultan menos inhibitorias para EGB (86).

Colistina y ácido nalidíxico (73) y polimixina, ácido nalidíxico y cristal violeta (86) son otras combinaciones empleadas en medios selectivos.

Todas estas combinaciones inhiben el crecimiento de bacilos Gram negativos y en algunos casos el de estafilococos que habitualmente se encuentran en las muestras clínicas junto a EGB, y aunque facilitan el aislamiento de EGB y su cuantificación, no aceleran el diagnóstico ya que la identificación tiene que realizarse con posterioridad.

El empleo de medios selectivos diferenciales permite el aislamiento y la rápida identificación de EGB, Waitkins en 1982 desarrolló un medio de estas características suplementando con metronidazol, polimixina y ácido nalidíxico el medio de Islam, que permite el aislamiento e identificación presuntiva de EGB en 24h. (175).

En 1983, fue propuesto otro medio de estas características por de la Rosa (151), basado en la utilización de altas concentraciones de almidón como agente gelificante y la acción de la Trimetoprima como factor activador de la producción de pigmento.

Modificaciones de este medio, han permitido obtener medios semisólidos y líquidos, que incorporando agentes selectivos, permiten la producción de pigmento sin precisar condiciones de anaerobiosis (148,177).

- Identificación.

EGB es una especie bien definida fisiológica y bioquímicamente por lo que su identificación presuntiva puede realizarse generalmente, por sus características de crecimiento y pruebas bioquímicas. No obstante, la identificación definitiva necesita la demostración del antígeno grupo específico (68,89,91).

Los métodos serológicos disponibles que permiten la correcta identificación de EGB son de dos tipos: los que llevan a cabo la extracción previa del antígeno carbohidrato específico, como son los test de aglutinación, precipitación, contrainmunolectroforesis o E.L.I.S.A (24,138,162,178), y los que no requieren extracción antigénica: aglutinación con latex, coaglutinación e inmunofluorescencia (25,65,81,96,97), estas son pruebas de rápida y fácil ejecución, con buena sensibilidad y especificidad, que pueden permitir la identificación de EGB directamente de muestras clínicas.

- Sensibilidad antibiótica.

Las C.M.I. publicadas de diferentes antibioticos para EGB aparecen en la tabla II.

TABLA II.

Antibiótico	C.M.I. (ugr./ml.)
Penicilina	0'0012 - 0'02
Ampicilina	0'01 - 0'08
Amoxicilina	0'01 - 0'16
Meticilina	2'0
Oxacilina	0'1 - 1'0
Carbenicilina	1'0
Piperacilina	0'1 - 1'0
Cefalotina	0'005 - 0'08
Cefuroxima	<0'03 - 0'06
Cefamandol	0'12
Cefotaxima	0'06 - 0'12
Ceftazidime	0'04 - 0'32
Cefoxitina	0'16 - 2'4
Gentamicina	16 - 32
Cloramfenicol	2'0 - 4'0
Doxiciclina	16
Clindamicina	0'06
Eritromicina	0'06
Lincomicina	0'12
Vancomicina	0'5
Rifampicina	0'1 - 1'0
Thienamicina	0'0012 - 0'02
Ciprofloxacina	0'12 - 2
Ofloxacina	0'12 - 4
Norfloxacina	0'12 - 16

Datos publicados (20,100,109,150)

La sensibilidad de EGB, no esta relacionada con el serotipo ni el origen del aislamiento (20,100).

Es notable la extraordinaria actividad que presentan la mayoría de los Beta-Lactámicos, fundamentalmente la penicilina, frente a EGB y esta, es la droga de elección para el tratamiento de infecciones por EGB (14,67,94,157).

Ninguno de los nuevos antibioticos beta lactámicos ha demostrado "in vitro" mayor actividad que la penicilina G, y varios de ellos son significativamente menos activos, como el moxalactam (29,100).

En algunos estudios, se ha descrito que 4% - 6% de las cepas son relativamente resistentes a penicilina (110) con concentraciones minimas bactericidas (CMB) significativamente mas altas que las CMI.

Los macrólidos, eritromicina, lincomicina y clindamicina presentan C.M.I. menores de 0'12 ugr/ml. Aproximadamente 1% de las cepas son resistentes a clindamicina y lincomicina y estas cepas presentan resistencia cruzada a eritromicina. (21,109).

Aunque, EGB es resistente a los antibioticos amino-glucósidos, "in vitro" presentan sinergismo con penicilina y ampicilina (21,112,166). Gentamicina es una de las sustancias selectivas mas frecuentemente utilizadas en caldos de cultivo para EGB (15,62,86).

Los mecanismos de resistencia a antibioticos de EGB no son bien conocidos, pero recientemente se han encontrado plásmidos que median resistencia a tetraciclina, cloramfenicol, eritromicina y lincomicina. El porcentaje de cepas de EGB que contienen estos plásmidos es baja (92,119).

1.1.4. - COLONIZACION

EGB representa una de las mayores causas de sepsis neonatal y el tracto genital femenino es el origen de la infección del Recién Nacido (RN) en la mayoría de los casos (59,62,63).

Las tasas de colonización por EGB en el tracto genital femenino y en otras localizaciones anatómicas son variables, y dependen fundamentalmente del tipo de población estudiada, de las zonas muestreadas, del número de muestras tomadas y de la forma de procesamiento de estas muestras (62).

La colonización por EGB se ha investigado en tracto respiratorio superior, tracto gastrointestinal y genital y área perineal en adultos.

Tracto respiratorio:

Las tasas más bajas de colonización, en adultos, corresponden al tracto respiratorio superior y son inferiores al 5% (4).

Tracto urogenital:

La tasa de colonización por EGB se sitúa entre el 5%-35% (4,16,62).

La colonización vaginal es mayor en mujeres sexualmente activas, durante la primera mitad del ciclo menstrual y que usan dispositivos intrauterinos. El embarazo no parece influir sobre el estado de portadora de EGB, ya que se

observa una prevalencia similar, de colonización vaginal, en mujeres gestantes y no gestantes (16,53,62).

Un gradiente de densidad bacteriana progresivamente mayor cuanto mas externa es la zona muestreada se encuentra en mujeres, donde el aislamiento de EGB es mas frecuente en vagina y uretra que en cervix (176).

La frecuencia con que EGB se aísla de uretra es más baja en hombres que en mujeres, sin embargo la colonización rectal es similar en ambos sexos (4,102).

Tracto gastrointestinal:

Durante algún tiempo el tracto genital femenino se consideró como el reservorio de EGB desde donde se produciría la contaminación de las zonas proximas por contigüidad (67). En 1977 Badri (11), aisló con mayor frecuencia EGB de muestras rectales y posteriormente Dillon y Easmon confirmaron estos hallazgos (53,59,60), esto hizo suponer que el tracto gastrointestinal representa la localización primaria de EGB y que la colonización vaginal se produce a partir de este origen.

La colonización intestinal por EGB explica el patron de portación durante el embarazo (5,7,11,62), su persistencia a pesar de tratamiento antibiótico (83), y su importancia como patógeno urinario en mujeres (50,128,183).

EGB se ha aislado en líquido peritoneal tras peritonitis y de duodeno y yeyuno de adultos sanos en los que la presencia de EGB en boca y faringe fue excluida, lo que hace improbable una contaminación durante la intubación

(6).

Estos hallazgos indican que hay que considerar a EGB como una bacteria entérica endógena, que por factores desconocidos, de cuando en cuando, pasa a vagina y determina la colonización vaginal (4,5,7,53,59).

Colonización durante el embarazo:

La tasa de colonización por EGB en embarazadas es muy variable, en los diferentes estudios; esta variabilidad depende fundamentalmente de: el empleo de medios selectivos; tipo de muestra, vaginal sólo o vaginal y anorectal; sitio preciso del que se obtiene la muestra en el tracto genital, vagina, vulva o cervix; y el número de veces que se toman muestras a la mujer durante el embarazo (53,62,74).

De todos estos factores, el empleo de caldos selectivos enriquecidos parece el más importante y con su empleo se han encontrado tasas de portadoras del 25% aún tomando sólo muestras del tracto genital (15,62).

El valor predictivo de un cultivo prenatal positivo, como índice de riesgo de infección neonatal, es más alto en mujeres con colonización vaginal y rectal (73%) que en mujeres con sólo colonización vaginal (60%) (11).

Easmon y Hastings, analizando muestras vaginales y anorectales, de forma repetida durante el embarazo y con el empleo de medios selectivos detectaron 84% de las mujeres colonizadas al parto (62).

Colonización del neonato.

Baker y Barret (17), establecieron la importancia del tracto genital materno como origen de la colonización del neonato por EGB (Transmisión vertical).

En su estudio, 72% de los niños nacidos de madres colonizadas presentaban colonización por EGB y sólo 12% de los nacidos de madres no colonizadas en el momento del parto, la presentarón.

El recién nacido (RN), se coloniza en su paso a través del canal del parto o intraútero vía ascendente, incluso con presencia de membranas intactas es posible la colonización (4,8,14,59,62,74).

El grado de colonización vaginal, el parto prolongado con ruptura de membranas durante 24h. o más y la prematuridad o bajo peso al nacer aumentan la probabilidad de transmisión al RN (3,74,79).

La colonización del RN se produce en una o más áreas de su superficie corporal, siendo las más frecuentes el oído externo, fosas nasales, ombligo y recto. La frecuencia de aislamientos de EGB de cada uno de estos sitios es variable, inmediatamente después del nacimiento la tasa más alta de aislamientos es del oído externo; entre 6h y 18h de vida el recto y el ombligo aparecen más frecuentemente colonizados (62,79).

En algunas circunstancias, la transmisión nosocomial o familiar puede ser una vía alternativa de colonización para el RN (Transmisión horizontal) (8,59,74,79).

1.1.5.- FACTORES DE VIRULENCIA.

Adherencia a células epiteliales.

Se ha demostrado que la capacidad de los estreptococos para unirse a células de membranas mucosas guarda relación directa con su capacidad para colonizar e invadir al huésped (38,124).

Estudios comparativos de adherencia a células epiteliales vaginales de distintos microorganismos indígenas del tracto genital femenino y otros asociados con infección, presentan a EGB como el segundo germen más adherente por célula después de *Neisseria gonorrhoeae*, y ambos excedían notablemente al resto de especies bacterianas probadas en su adhesión a estas células. (10,124)

Distintas cepas de EGB varían en su grado de adherencia a las células epiteliales del huésped. Algunos autores, han encontrado que el tipo III muestra mayor adherencia "in vitro" a células epiteliales bucales de neonatos que otros serotipos, (tipos Ia y II) pero no se han encontrado diferencias entre los distintos serotipos con células de adultos (13,38).

Estos resultados, sugieren que tanto factores bacterianos como del huésped pueden modificar la adherencia de EGB a células epiteliales humanas (10).

Factores bacterianos determinantes de la adherencia.

La adherencia de EGB a células epiteliales esta mediada por componentes presentes en la superficie bacteriana que se unirían específicamente a receptores de la célula epitelial (31). En numerosos estudios se ha tratado de clarificar la identidad de este componente celular denominado "adhesina", con resultados contradictorios. El ácido lipoteicoico (LTA), responsable de la adherencia del estreptococo del grupo A a las células del huésped (2) se ha relacionado también con la adherencia de EGB, Nealon (136,137) encontró, en cepas de EGB aisladas de niños con sepsis un nivel significativamente más elevado de LTA que en las procedentes de portadores asintomáticos.

Por otro lado el pretratamiento de EGB con penicilina que conllevaría la pérdida del LTA no inhibe su adherencia a células epiteliales vaginales (186), por lo que parece probable que la capacidad de adherencia de EGB pueda ser mediada por más de un mecanismo (49,152), o bien que los receptores específicos de células de adultos puedan ser diferentes de las de RN (137).

Zagg (13) demostró, que la adhesina de EGB tiene las características de una proteína, que se uniría a un receptor de la superficie de la célula epitelial y que esta unión puede ser efectivamente inhibida por N-acetil-D-glucosamina, por lo que según este autor la adherencia de EGB a células epiteliales se produciría por el reconocimiento y unión de una lectina específica de la pared cé-

lular bacteriana a la N-acetil-D-glucosamina de la superficie de la célula huésped.

La capacidad de EGB para unirse a células epiteliales aumenta tras el tratamiento con neuraminidasa (133), y se ha relacionado una elevada producción de neuraminidasa por ciertas cepas de EGB con mayor potencial patógeno, la adhesina de la pared celular de EGB puede estar en algún grado enmascarada por ácido siálico, y sería expuesta tras el tratamiento con neuraminidasa, aumentando la interacción con los receptores del huésped (10,152).

- Factores del huésped determinantes de la adherencia.

Varios estudios han demostrado que existen factores del huésped que influyen en la adherencia de EGB a las superficies mucosas (38). Las cepas de EGB aisladas de RN con sepsis se adhieren más a células epiteliales procedentes de estos que a las de otros RN y adultos asintomáticos, esta observación coincide con los resultados obtenidos con estreptococos del grupo A en los que se ha determinado un mayor grado de adherencia en células faríngeas de pacientes con fiebre reumática que en grupos controles sin enfermedad cardíaca (158).

Botta y Zawaneh (34,186) describieron variaciones cíclicas en la adherencia de EGB a células epiteliales vaginales, una mayor adherencia se produce durante la primera mitad del ciclo menstrual, lo que sugiere una influencia hormonal en el mecanismo de adherencia, esto, esta en

relacion con la mayor frecuencia de cultivos vaginales positivos durante este periodo de tiempo (16).

Este cambio cíclico de la adherencia de EGB a las células vaginales no ha podido ser confirmado por otros autores, que no encuentran correlacion con los cambios hormonales (10).

La falta de confirmación de estos resultados, junto con las divergencias encontradas en los estudios de adherencia de EGB ilustran la complejidad de los factores implicados en este proceso y el escaso conocimiento que sobre los mismos se tiene en la actualidad.

- Otros factores de virulencia.

Neuraminidasa.

La asociación de neuraminidasa y virulencia de EGB fue establecida por Milligan (133), en cepas de EGB, la mayoría del tipo III, recuperadas de neonatos con sepsis y meningitis, en las que observó con algunas excepciones, que la producción de neuraminidasa era significativamente mayor que en las cepas del mismo serotipo recuperadas de RN asintomáticos. En estudios posteriores este mismo autor no pudo confirmar la relación, entre producción de neuraminidasa por EGB y virulencia de estos aislamientos.

Es posible que cepas con capacidad para producir mayores cantidades de neuraminidasa puedan ser productoras de otras sustancias, también en mayor cantidad, tales como

antígenos polisacáridos tipospecíficos y posiblemente otras enzimas o constituyentes bacterianos, por lo que resulta difícil asignar una significación especial a la neuraminidasa como marcador de virulencia de cepas de EGB (10,57,76).

Antígenos tipo-específicos.

Cepas de EGB que producen altas cantidades de antígeno han mostrado mayor virulencia que cepas con mas baja producción. Independientemente de la cantidad producida de neuraminidasa y/o proteasa el antígeno tipospecifico podría contribuir a la virulencia activando el complemento, inhibiendo la migración de los leucocitos polimorfonucleares o inhibiendo la maduración de los macrófagos a partir de las células precursoras (57).

Componentes celulares.

Ademas del LTA, el ácido siálico se ha relacionado con una aumentada virulencia de EGB, cepas del tipo III resistentes a la opsonización "in vitro" por anticuerpos específicos presentan mayor cantidad de ácido siálico que otras cepas. El mecanismo de acción aunque no bien conocido puede relacionarse con factores humorales en los que el ácido siálico intervendría impidiendo la acción de los anticuerpos protectores frente a antígenos tipospecíficos o bien inhibiendo la activación de la via alternativa del complemento (160).

1.1.6. - INFECCION

Infección neonatal.

La infección por EGB en el periodo neonatal, puede presentarse bajo dos formas, clínica y epidemiológicamente diferentes: una forma de comienzo precoz y otra de comienzo tardío (14,19,79,80).

La forma precoz de la infección por EGB es la de presentación más frecuente, se manifiesta en los primeros días de vida generalmente como sepsis o neumonia y conlleva una alta mortalidad.

La forma tardía, se presenta en niños de una semana a tres meses de edad, es de comienzo insidioso y difícil de distinguir clínicamente de otras infecciones bacterianas; meningitis, es la manifestación clínica más frecuente de este tipo de infección (64,79).

Infección Neonatal Precoz.

Las manifestaciones clínicas de la infección por EGB pueden aparecer durante las primeras horas de vida y hasta los siete días después del nacimiento (19,75,79).

La infección puede producirse intraútero o durante el paso a través del canal del parto (4,16,59,74,79,184). La puerta de entrada más frecuente es el tracto respiratorio, lo que se evidencia por la elevada frecuencia de afectación pulmonar con hallazgos radiológicos e histopatológicos de infección (1,97,174).

Otra posible puerta de entrada es la piel, la monitorización fetal intraútero puede originar la introducción de EGB a través de la piel en hijos de madres colonizadas (51).

Aunque EGB se aísla con frecuencia de aspirados gástricos en RN no se tiene evidencia de que esta constituya una vía de penetración en el torrente sanguíneo (75).

Los factores de riesgo asociados a este tipo de infección son: prematuridad, con la mayor incidencia de infección en niños de menos de 1500 gr. al nacer, la ruptura de membranas prolongada durante más de 24h., infección materna: fiebre intraparto o amnionitis y un fuerte grado de colonización maternal (3,8,79).

Este tipo de infección se asocia generalmente con neumonía y sepsis del RN y las manifestaciones clínicas iniciales son de compromiso respiratorio con taquipnea, bradicardia, y cianosis (14,64,79). Aproximadamente 30% de los niños con septicemia tienen una meningitis concomitante y el 40% tienen afectación pulmonar (64). Clínicamente la sintomatología respiratoria en los primeros estadios de la enfermedad es indistinguible de la del síndrome de distress respiratorio idiopático (129).

La tasa de mortalidad de la infección precoz por EGB se sitúa entre el 50% - 75% (14,62,79) y en niños inmaduros que presentan síntomas al nacer, se acerca al 90% - 100% (75).

En el tejido pulmonar de los niños fallecidos, se han encontrado grandes infiltrados de EGB con formación de

membranas hialinas y en ocasiones con respuesta inflamatoria, esta respuesta de tipo inflamatorio no se presenta en los niños mas inmaduros a nivel pulmonar ni meningeo (107,174).

Los serotipos aislados de niños con esta forma de infección se distribuyen por igual entre el I, II y III, pero en los niños que presentan meningitis el serotipo que se aísla en el 80% de los casos es el III (179).

Infección neonatal tardía.

Es la infección por EGB que se presenta en niños de 7 a 10 días hasta 8 - 12 semanas o más de edad (14,64,79).

Entre los antecedentes maternos no suelen encontrarse complicaciones obstétricas ni en el parto ni en el periodo postparto, y habitualmente se trata de mujeres no colonizadas por EGB (74,75).

El mecanismo de transmisión, aunque no bien conocido, es de tipo horizontal, y el origen de la infección nosocomial (8,141,164).

La infección se manifiesta en el 80% de los casos como una meningitis purulenta, con o sin bacteriemia detectable, tras la meningitis las formas de presentación mas frecuentes son bacteriemia sin focalidad, osteomielitis y artritis (14).

Otras posibles manifestaciones son: otitis, etmoiditis, omfalitis, conjuntivitis, celulitis, absceso cerebral,

empiema pleural, impétigo, pericarditis y endoftalmitis (18,40,95).

La mortalidad de la infección por EGB de comienzo tardío es mucho más baja que en la precoz y oscila entre el 14% y el 23% (14,75,79).

Del 33% al 50% de los niños que sobreviven presentan algún tipo de déficit neurológico (66).

El serotipo III es el que se aísla con mayor frecuencia en esta forma de infección (179).

Infección puerperal

Las primeras descripciones de EGB como patógeno humano fueron a partir de casos de sepsis puerperal (54).

Desde entonces cada vez con más frecuencia se encuentran en la literatura estudios que le implican en la infección puerperal: sepsis e infecciones no bacteriémicas fundamentalmente infecciones del tracto urinario (ITU) y endometritis (77,94,142).

La incidencia de sepsis puerperal por EGB se estima entre 2 y 4'5/1000 partos (70) y es la causa más frecuente de sepsis estreptocócica en pacientes obstétricas (84).

Los factores de riesgo asociados a la infección maternal por EGB no parecen ser diferentes a los de las infecciones puerperales en general y de estos factores los más relacionados son, presencia de signos o síntomas de infección anteparto y a cesárea (142).

El serotipo mas frecuentemente asociado con infección puerperal es el II y el mismo serotipo es el que se aísla del tracto genital (142).

Infección del tracto urinario (ITU)

Brown en 1939 describió por primera vez al EGB como patógeno urinario (54).

Aproximadamente 1% de las ITU son causadas por EGB (123) y de todos los estreptococos es el segundo mas frecuentemente aislado de orina, solo excedido por los del grupo D (47,78).

Estas infecciones son mas frecuentes en pacientes con anomalías de vías urinarias, especialmente si se acompañan de algún tipo de déficit inmunológico (123).

Bayer (30), en una serie de 24 pacientes adultos con infección por EGB, recoge siete casos de pielonefritis (30%) todos ellos con alteraciones urológicas y/o diabetes siendo en esta serie la pielonefritis el origen mas frecuente de bacteriemia por EGB en pacientes adultos, otros tres pacientes de esta misma serie, dos con meningitis y uno con artritis séptica tenían antecedentes de ITU por EGB.

En otros estudios la ITU representa el foco más frecuente de bacteriemia por EGB en varones adultos, lo que muestra la importancia del tracto genitourinario como reservorio de EGB tanto en mujeres como en varones (149,172).

La uropatía obstruictiva benigna es el factor predisponente en la mayoría de los casos de ITU que se complican con bacteriemia, y sin que coexistan enfermedades subyacentes de mayor gravedad, EGB puede originar sepsis desde este foco (172).

Durante el embarazo la frecuencia de ITU por EGB parece ser mas alta. Mead (128), en su estudio sobre 371 pacientes encontró que 19 de ellas (5'1%) presentaban infección por EGB, y representó el segundo aislamiento mas frecuente sólo superado por *Escherichia coli*. Tres de estas pacientes presentaban pielonefritis, una de ellas con sepsis, cinco tenían síntomas de cistitis y las restantes estaban asintomáticas, de este grupo de mujeres asintomáticas, dos tuvieron hijos con neumonía y sepsis por EGB.

En otro estudio prospectivo realizado por Wood en 1981 (183), 46 de 569 mujeres presentaron bacteriuria durante el embarazo, 14 de ellas con EGB, entre estas se presentaron dos casos de muerte fetal intrauterina y uno de meningitis por EGB en el RN.

Mujeres con EGB en orina durante la gestación presentan con mayor frecuencia parto prematuro, rotura prematura de membranas y aborto, llegando hasta el 20% en algunos estudios, probablemente en relación con un mayor inóculo vaginal que favorecería la infección ascendente (134). Es por esto que se ha sugerido la necesidad de realizar screening en el embarazo para descartar bacteriurias por EGB, sobre todo por la frecuencia con que cursa la infección, en este periodo, de forma asintomática y en muchos casos sin

leucocituria (145).

En niños, también se han descrito ITU causadas por EGB (37,135), con una alta prevalencia de casos con anomalías de vías urinarias.

Murphy (135), presentó una serie en la que describe 12 casos de ITU por EGB (> de 10⁵ ufc./ml.) en pacientes entre 4 y 16 años, diez mujeres y dos varones, siete fueron asintomáticos y nueve de ellos presentaban algún tipo de alteración urológica, algunas de estas infecciones resolvieron espontáneamente y la función renal no se afectó en ningún caso.

Aunque EGB puede producir infección en pacientes sin patología previa, parece más apropiado considerarlo como patógeno oportunista cuando existe una uropatía obstructiva (122,135).

Otras Infecciones.

Otras infecciones por EGB que se presentan en niños después del período neonatal y en adultos son: artritis (114,163,167), bacteriemia (67,116,172), conjuntivitis (40), endocarditis (12,82,182), erisipela (33), meningitis (30), neumonía (30,172), osteomielitis (127), faringitis (41), celulitis e infecciones de heridas (82,122).

Estas infecciones se presentan sobre todo en pacientes que padecen enfermedades subyacentes, en particular dia-

betes mellitus, o algún déficit inmunológico. La tasa de mortalidad es muy variable según las series; dependiendo del tipo de infección y de la patología de base alcanzando hasta el 45% en meningitis y endocarditis (30,82).

La infección por EGB en adultos, presenta por tanto una distribución bimodal: una población estaría representada por mujeres jóvenes sanas en las que la infección por EGB es una complicación del embarazo, aborto o del periodo postparto y por otro lado una población de adultos viejos, generalmente inmunodeprimidos, en los que esta infección complica una enfermedad subyacente (30,152).

Las lesiones cutáneas como heridas y úlceras, especialmente de miembros inferiores son de las que más comúnmente se aísla EGB (116), sin embargo no son un origen común de bacteriemia. Dworzack en un estudio prospectivo sobre aislamientos de estreptococos beta hemolíticos, encuentra que una gran proporción de los EGB aislados (25 de 65) fueron de piel y tejidos blandos (58), sin embargo, la mayoría de estos aislamientos representaban colonización, con probable o posible infección en sólo nueve casos, ninguno de ellos bacteriémico. Pacientes con diabetes mellitus y enfermedad vascular periférica en los que EGB se encuentra colonizando úlceras isquémicas presentan con mayor frecuencia infección y bacteriemia, en algunos casos polimicrobiana (30,67,172).

Celulitis y erisipela por EGB, se han descrito también más frecuentemente en pacientes con lesiones vasculares periféricas, en ocasiones con carácter recurrente y en

algunos casos de origen nosocomial (33,82).

Aunque no son frecuentes, se han descrito casos de artritis séptica por EGB (114), más del 50% de los pacientes presentan factores predisponentes, locales o sistémicos, y en los restantes puede encontrarse un origen extraarticular de la infección, en el 20% de los casos la afectación es poliarticular.

Artritis y osteomielitis por EGB pueden presentarse en pacientes con prótesis articulares (163). Otras infecciones asociadas a "cuerpo extraño" se describen tras cateterismo intravascular, sobre todo en pacientes hemodializados con sepsis por EGB (82,172).

La neumonía por EGB es una infección grave con una alta tasa de mortalidad, suele afectar a pacientes de edad avanzada y es una de las causas más frecuentes de bacteriemia. El aislamiento de EGB de esputo no es habitual pero cuando ocurre parece tener mayor significado clínico que a partir de otras muestras y requiere mayor evaluación (30).

La endocarditis por EGB es una manifestación poco frecuente de la infección estreptocócica, Gallagher en 1986 (82), describe siete casos y realiza una revisión de otros cincuenta y cinco publicados desde 1962, siendo la serie más extensa que se encuentra en la literatura.

La edad media de presentación fue de 54 años con el 45% de los pacientes mayores de 60 años, la relación hombre/mujer fue 1'4/1 y la mortalidad global del 43'5%.

Más de la mitad de los pacientes sufrían una cardiopa-

tía reumática, otras condiciones subyacentes fueron diabetes mellitus, alcoholismo, embarazo, adicción a drogas i.v. y alteraciones urológicas.

Las valvulas mas frecuentement. afectadas fueron la mitral y la aortica y en cinco casos se describen endocarditis sobre prótesis valvular, cuatro de comienzo precoz (menos de dos meses tras cirugía) y uno tardío.

De cinco casos presentados en gestantes, tres fueron asociados a aborto séptico.

Dos de los casos fueron de origen nosocomial y otros dos fueron polimicrobianos uno con *Staphylococcus aureus* y otro con *Eikenella corrodens*.

Cuatro casos se dieron en adictos a drogas i.v. todos de forma aguda, siendo esta la primera revisión en que se describen endocarditis por EGB en este grupo de pacientes.

Otras series incluyen descripciones de endocarditis y bacteriemia en adultos (116,149,182), en todas ellas es común la existencia de factores predisponentes o condiciones subyacentes que favorecen la infección. En la serie de Lerner (116), 100% de las mujeres y 80% de los varones presentaban alguna de ellas, fundamentalmente diabetes mellitus, tumores malignos, alcoholismo, alteraciones urológicas e inmunosupresión farmacológica.

La bacteriemia por EGB se presenta con mayor frecuencia en pacientes hospitalizados, 40%-70% tienen un origen nosocomial, y hasta un 40% son polimicrobianas (82,172); siendo el tracto respiratorio, genitourinario y los puntos de acceso de catéteres intravasculares los focos mas impor-

tantes, en algunas series el cuadro clínico más frecuente es la bacteriemia sin foco séptico evidente (116,149).

Complicaciones como hipotensión y shock son infrecuentes (30,172), aunque la mortalidad global es alta en relación con las enfermedades subyacentes.

1.1.7.- INMUNIDAD.

La determinación de anticuerpos frente a antígenos tipo específicos de EGB en RN y mujeres portadoras, ha permitido establecer una relación directa entre su título en suero y el riesgo de infección.

Lancefield en 1934, en modelos experimentales estableció el carácter protector de estos anticuerpos (85,90) y en base a ello, se han realizado numerosos estudios para establecer la prevalencia y el nivel de anticuerpos a EGB en suero humano (27,43,108,173).

Las madres de los RN que presentan infección por EGB tienen niveles de anticuerpos al serotipo infectante más bajos que los de otras mujeres colonizadas por EGB con hijos no infectados (23,42,90).

Ya que una alta proporción de mujeres colonizadas presentan un bajo título de anticuerpos, su determinación puede ser un indicador de riesgo de infección neonatal por EGB (43).

En prematuros, de edad gestacional menor de 34 sema-

nas, el título de anticuerpos es bajo lo que puede contribuir a la mayor incidencia de infección, comparado con niños a término (42).

1.2.- DIAGNOSTICO DE LA INFECCION POR S. AGALACTIAE

El diagnóstico microbiológico de infección por EGB requiere la demostración del microorganismo en sangre, LCR u otras muestras significativas, por técnicas convencionales de cultivo, con o sin utilización de medios de enriquecimiento y diferenciales, y/o la detección del antígeno tipospecifico en estas muestras.

El aislamiento de EGB de mucosas, aspirados gástricos, superficies cutáneas y tracto genital materno, no tiene significado diagnóstico, ya que no permite distinguir entre colonización e infección (75).

Entre las técnicas rápidas de diagnóstico se han empleado con éxito, la contrainmunolectroforesis (CIE), que fue la primera en generalizarse (24), más recientemente se ha introducido la coagulación (25,75) y las técnicas de latex y ELISA que han demostrado mayor sensibilidad y especificidad que la CIE (178). Estas técnicas permiten la detección de antígenos tipospecificos en sangre, LCR y concentrados de orina que son diagnósticos de infección por EGB.

El empleo de anticuerpos monoclonales, aunque no se

ha generalizado, probablemente aumente la sensibilidad de detección de antígenos de EGB en muestras clínicas (155).

Otras pruebas, pueden sugerir el diagnóstico de infección, p.e. la tinción de Gram de aspirados, LCR, orina o sangre de RN o líquido amniótico con presencia de cocos Gram positivos en cadenas (97). Neutrofilia o neutropenia, con proporción aumentada de granulocitos inmaduros, son también hallazgos comunes, aunque no específicos de esta infección (75).

1.3. - TRATAMIENTO.

-Tratamiento antibiótico. -----

La penicilina G ha sido el antibiótico de elección en el tratamiento de la infección por EGB (109), sin embargo y aunque EGB es uniformemente sensible, la respuesta clínica en algunos casos no es buena y se han descrito recaídas a pesar de un régimen terapéutico adecuado (39,154).

Posibles explicaciones para estos fallos son: 1) La existencia, de cepas relativamente resistentes con CMI superiores a los niveles alcanzados en LCR (110), 2) Que mientras un inóculo de 10^5 ufc/ml. se suele emplear para determinación "in vitro" de CMI, en meningitis bacteriana se encuentran inóculos del orden de 10^8 ufc/ml. que determinan una CMI mayor (71), 3) La presencia de cepas toleran-

tes, con CMI muy inferiores a la CMB (110,111), y 4) La pérdida del carácter bactericida de los Beta-Láctamicos clásicos en condiciones de multiplicación limitada de los microorganismos (fase estacionaria), como ocurre con altas densidades bacterianas (171).

La combinación de penicilina mas un aminoglucósido, generalmente gentamicina en el tratamiento de infecciones graves por EGB es ampliamente utilizada dado el sinergismo que estos antibióticos presentan "in vitro" (20,21,166); sin embargo, no existen estudios en humanos que demuestren su eficacia (75) y no todas las cepas de EGB están sujetas al efecto sinérgico de esta asociación (157).

No obstante, parece razonable el empleo de dos drogas, al menos durante la fase inicial de la enfermedad por el posible aumento de la capacidad bactericida que esta asociación consigue (64).

La duración del tratamiento y las dosis son variables, dependiendo de la edad, gravedad de la infección y la respuesta clínica (75).

En niños con meningitis, que han respondido mal al tratamiento con penicilina, se ha empleado en ocasiones cloramfenicol, con resultado favorable. Sin embargo, la combinación de ampicilina y cloramfenicol ha demostrado antagonismo en estudios "in vitro" frente a cepas de EGB aisladas de LCR (109), y por tanto esta contraindicada.

De las cefalosporinas, cefuroxima y ceftriaxona que alcanzan altas concentraciones en LCR pueden ser una buena

alternativa en el tratamiento de la infección por EGB (93).

En el tratamiento de las infecciones graves por EGB en el adulto la penicilina es igualmente el antibiótico de elección, cefalotina y vancomicina se han empleado en pacientes alérgicos a penicilina (30,64,75,84).

La asociación penicilina o ampicilina mas un aminoglucósido aunque se utiliza generalmente no ha demostrado clinicamente su eficacia, pero su uso estaria justificado en infecciones graves por cepas tolerantes o relativamente resistentes a penicilina (12,157).

El empleo de antibióticos macrólidos en el tratamiento de la infección por EGB, no se recomienda, aunque clindamicina presenta CMI muy bajas, la respuesta al tratamiento puede no ser la adecuada debido a la acción bacteriostática de este grupo de farmacos (109).

En endocarditis por EGB el tratamiento quirúrgico asociado al médico parece mejorar los resultados. En la serie de Gallagher (92), la tasa de mortalidad fue 20% en pacientes con tratamiento combinado y 50% en los que sólo recibieron tratamiento médico. La endocarditis sobre prótesis valvular es rara, en esta misma serie, el tratamiento médico falló en cuatro de los cinco casos presentados por lo que es probable que EGB sea una excepcion a la impresion de que la endocarditis estreptocócica tardia, en ausencia de dehiscencia valvular, generalmente no requiere tratamiento quirúrgico (156).

Algunas propuestas de pautas de tratamiento de infecciones graves causadas por EGB, en adultos se detallan en la tabla III.

TABLA III. Tratamiento de las infecciones por EGB en adultos (64)

Diagnóstico	antibiótico (Dosis iv.)	duración* tratamiento
Bacteriemia	Penicilina G 10 millones U/día o cefalosporina de primera generación**	10 días
Meningitis	Penicilina G 20-30 millones U/día o cloramfenicol***	14 días
Osteomielitis	Penicilina G 10-20 millones U/día o cefalosporina de primera generación**	3-4 sem.
Endocarditis	Penicilina G 30 millones U/día o cefalosporina de primera generación****	4 sem.

* Mínima duración del tratamiento.

** 6-8 gr./día de una cefalosporina de primera generación.

*** 4 gr./día de Cloramfenicol.

**** 8 gr./día de una cefalosporina de primera generación.

1.4. - PROFILAXIS.

Quimioprofilaxis.

Se han empleado varios tipos de quimioprofilaxis para prevenir la infección precoz por EGB en RN; un enfoque utilizado es la profilaxis prenatal mediante el tratamiento antibiótico del estado de portadora durante el embarazo, con penicilina o ampicilina (83,88). Sin embargo, este régimen que aparentemente suprime la colonización vaginal no tiene efecto sobre la transmisión vertical de EGB, ya que la recolonización se produce al suprimir el tratamiento antibiótico. Sólo se ha demostrado una reducción significativa de la colonización maternal y neonatal con tratamiento prolongado con penicilina desde la 38 semana de gestación hasta el parto (117,130), aunque sin efecto en los prematuros de menor edad gestacional.

Un segundo enfoque de quimioprofilaxis, el tratamiento intraparto de la madre, ha resultado mas eficaz (35,36,118,185). En el estudio de Boyer (36) la administración de ampicilina i.v. durante el parto redujó la incidencia de transmisión del 35% en el grupo control (37/80) al 2% en el grupo con tratamiento (43/80). Este régimen se indica en mujeres portadoras de EGB antes del parto y que presentan ruptura prolongada de membranas (> 24h) o parto prematuro (antes de la semana 37), por ser estos factores de riesgo los mas frecuentemente asociados con infección precoz.

Los mecanismos por los que este tratamiento previene

la transmisión intraparto de EGB pueden ser una supresión temporal de la colonización vaginal y rectal, una elevada concentración de ampicilina en el líquido amniótico y un paso transplacentario de antibiótico al niño. No es probable, que este último mecanismo influya de manera significativa en la colonización superficial, sin embargo la presencia de ampicilina en el suero del RN puede impedir la invasión por EGB (185).

Las dificultades que plantea este régimen profiláctico son la correcta identificación de mujeres portadoras al comienzo del parto, el tratamiento de un gran número de mujeres cuando la prevalencia es alta con el fin de prevenir una sola infección neonatal, los potenciales efectos adversos del antibiótico entre las receptoras y la creación de resistencias (64).

La profilaxis con penicilina en el RN es la tercera pauta propuesta (147,161). Esta quimioprofilaxis postnatal es capaz de prevenir la infección precoz transmitida verticalmente por el paso a través del canal del parto colonizado, pero el grupo de infecciones adquiridas intraútero no pueden prevenirse con este régimen (35).

Inmunoprofilaxis

La inmunización activa de mujeres gestantes para prevenir la infección del RN se basa en el carácter protector de los anticuerpos creados frente a los antígenos tipo

específicos de EGB y en el mayor riesgo de infección que presentan los RN de madres con bajos títulos de anticuerpos en suero (23,27,52,105).

Se han desarrollado vacunas con antígenos polisacáridos purificados de EGB, que han resultado inmunogénicas y bien toleradas en voluntarios (22). Aunque se ha establecido su eficacia la administración, en el último trimestre del embarazo, presenta el problema de la identificación de los grupos de riesgo en el momento del parto (22,26).

Profilaxis antiséptica.

Christensen en 1985 empleó lavados vaginales con Clorhexidina en el parto, obteniendo una significativa reducción en las tasas de colonización de RN, 11% frente a 39% en el grupo control, y en los casos en que hubo colonización, a pesar del tratamiento, esta fue menos intensa que en el grupo no tratado (45).

En otros estudios, el tratamiento local con Clorhexidina no ha resultado eficaz (61).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS.

Los objetivos de este trabajo han sido:

1). Evaluación de los procedimientos de detección rápida de infección y colonización por EGB: Medios selectivos y medios de producción de pigmento.

-Identificación de EGB mediante pruebas bioquímicas y evaluación de tres sistemas rápidos y automatizados de identificación.

2). Aspectos epidemiológicos de EGB en población adulta y tasas de colonización en adultos y RN.

a) Epidemiología hospitalaria: tasas de colonización en diversos grupos de pacientes hospitalizados.

b) Tasa de colonización en gestantes.

c) Tasa de colonización en mujeres fuera del periodo fértil.

d) Tasa de colonización en RN.

e) Serotipos.

3). Definición en nuestro medio del espectro clínico de la infección por EGB en adultos.

4). Estudio de sensibilidad a antibióticos:

-CMI a diferentes antibióticos.

-CMB y Tolerancia a beta lactámicos.

5). Estudio de adherencia a células epiteliales.

MATERIAL Y METODOS

3.1.- DESCRIPCION DEL MATERIAL ESTUDIADO.

3.1.1 - ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO.

Se ha realizado sobre un total de 500 pacientes, tanto hospitalizados como procedentes de consultas externas, distribuidos en cinco grupos:

GRUPO I - Recién nacidos (RN) sin patología detectada en las primeras 24h. de vida de la unidad neonatal del Hospital Maternal. (n = 100).

GRUPO II - Varones adultos hospitalizados en las áreas de cirugía vascular y medicina interna. (n = 100).

a- Pacientes con tratamiento antibiótico en los días inmediatamente anteriores al estudio. (n = 29).

b- Pacientes sin tratamiento antibiótico previo. (n = 71).

GRUPO III- Mujeres gestantes entre 38 y 42 semanas, seguidas en la unidad de vigilancia prenatal del Centro Materno Infantil. (n = 100).

GRUPO IV- Mujeres menopáusicas y premenopáusicas, de 40 a 60 años, estudiadas en consulta de diagnóstico precoz del cáncer genital. (n = 100).

GRUPO V- Mujeres hospitalizadas en las mismas áreas que el grupo anterior (n = 100), que se han separado en:

a- Con tratamiento antibiótico. (n = 16).

b- Sin tratamiento antibiótico. (n = 84).

La población en cada grupo fue elegida al azar en cada área hospitalaria.

Las muestras tomadas para detección de portadores de EGB fueron: 1) Exudado vaginal, perianal, faríngeo y heces en mujeres. 2) Exudado faríngeo y heces en varones, y 3) Muestras de superficies mucosas: Faríngeo, umbilical y ótico, en RN.

Las muestras se obtuvieron con escobillones con medio de transporte de Amies (Biomedics), y se tomaron dos escobillones por muestra.

3.1.2 - ESTUDIO CLINICO.

El grupo de estudio está constituido por 110 pacientes hospitalizados o ambulatorios, seleccionados tras aislamiento de EGB en una o mas muestras clínicas, (excluidos exudados vaginales y muestras procedentes de RN) de entre las remitidas al laboratorio de microbiología, durante un periodo aproximado de dos años. (Mayo, 1987 - Marzo, 1989)

Las muestras, fueron tomadas según su procedencia, con escobillones, punción - aspiración o biopsia y transportadas en recipientes estériles al laboratorio en un tiempo máximo de dos horas desde su obtención.

Las muestras de sangre para hemocultivo se inocularon en frascos NR6A y NR7A (Bactec-NR-730, Becton Dickinson)

Tras el aislamiento inicial de EGB, se inició el seguimiento del enfermo completandose en cada caso un protocolo, en el que se recogían: antecedentes clínicos y enfermedad actual, muestras anteriores y tratamiento ant-

rior al aislamiento de EGB, tratamiento, evolución clínica y evolución bacteriológica

La significación de EGB en cada caso se estableció valorando:

- 1) Purulencia de la muestra.
- 2) Aislamiento de EGB como único microorganismo.
- 3) Síntomas de infección.
- 4) Respuesta al tratamiento.

Los aislamientos realizados de muestras de sangre y otros productos normalmente estériles, siempre fueron considerados significativos.

3.1.3 - CEPAS BACTERIANAS.

Se han estudiado 200 cepas de EGB de entre las aisladas durante el periodo de estudio: 111 procedentes de pacientes adultos y las restantes de portadores asintomáticos, en su mayoría mujeres con colonización vaginal y/o perineal (n=59), varones hospitalizados (n=5) y RN sin signos o síntomas de infección y que presentaban colonización por EGB en una o más áreas de su superficie corporal (n=25).

Como cepas de control se han empleado los serotipos Ia, Ib, Ic, II y III del ATCC, proporcionadas por el CNMVIE de Madrid.

3.2 - MICROBIOLOGIA.

3.2.1 - MEDIOS DE CULTIVO Y CONSERVACION DE CEPAS.

Para el estudio de portadores las muestras se procesaron por duplicado. Con uno de los escobillones se realizó una siembra directa en placa: medios de agar sangre, de Islam (99) y de Granada (151), mientras que el otro se procesó tras enriquecimiento en caldo selectivo: Todd-Hewitt con 6 ug./ml. de gentamicina, 15 ugr./ml. de ac. nalidixico y 10 ugr./ml. de metronidazol (15,175).

Las restantes muestras clínicas fueron procesadas en diferentes medios según su procedencia, siguiendo las pautas habituales (98).

Los medios empleados para aislamiento de EGB han sido:

=Agar sangre:

Columbia agar base, CM 331. (OXOID limited, Basingstoke, Hampshire, England.). Con 5% de sangre de carnero.

=Agar sangre con 40 mgr./l. de ácido nalidixico.

(Diagnostic Pasteur. 64531.)

=Medio de Islam.

GBS agar base (Islam), OXOID. CM 755.

Fórmula en gramos por litro de medio.

Proteosa peptona = 23.

Almidón soluble = 5.

Fosfato monosódico = 1'482.

Fosfato disódico = 5'794.

Agar = 10.

pH final = 7'5

Suplementado con 5% de suero de caballo inactivado (Materiales y Reactivos S.A. Madrid.)

Este medio se modificó mediante la adición de metronidazol (Rhone - Poulenc) 10 mgr./l. (175).

-Medio Granada.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada.

Proteosa peptona num.3 (Difco) = 35.

Almidón lavado (Merck) = 150.

Fosfato monosódico dihidratado = 7'8.

Fosfato disódico = 0'80.

Cloruro sodico = 4.

Dextrosa (Difco) = 1'5.

Trimetoprim (lactato) = 0'015.

Suero de caballo = 100 ml.

pH final = 7'4.

Preparado como indica su descripción original (120,151).

-Medio de enriquecimiento selectivo para EGB.

Se ha usado caldo Todd-Hewitt (Difco C.0492-01) con extracto de levadura y antibióticos: Gentamicina 6 ugr/ml, Acido nalidixico (Sigma) 15 ugr/ml y Metronidazol (Rhone - Poulenc) 10ugr/ml.

Todas las cepas se conservarán en agar cistina triptica: Cystine Tript case Agar (Difco 0523-01).

Además se congelaron, en caldo glicerol 15%, a -80°C. hasta su posterior uso.

3.2.2 - SELECCION DE LAS COLONIAS DE EGB.

Se realizó de acuerdo con los siguientes criterios (68,89):

Examen macroscópico de las colonias:

Tras incubación de 18h-24h.: Colonias de 2-3 mm. de diámetro, lisas de bordes enteros, con hemólisis tipo beta en placas de agar sangre de carnero o agar sangre nalidixico, o no hemolíticas con caracteres morfológicos similares.

En medios conteniendo almidón las colonias se seleccionaron por la presencia de pigmento anaranjado tras incubación en anaerobiosis.

Examen microscópico.

Al Gram, células esféricas de 0'6 a 1'2 um. de diámetro Gram positivas, agrupadas generalmente en cadenas de longitud variable.

3.2.3. - IDENTIFICACION DE EGB.

Las colonias con la morfología descrita, oxidasa y catalasa negativas, tras examen microscópico, se aislaron en medio de agar sangre para su posterior identificación a partir de un cultivo puro. La identificación de las cepas de EGB, se realizó por las técnicas siguientes (89):

- Resistencia a Trimetoprim-sulfametoxazol (SXT) y Bacitracina (46).

Se utilizan discos de SXT, que contienen 1'25 ugr. de Trimetoprim y 23'75 ugr. de Sulfametoxazol (Difco: 6831-89-6), y Bacitracina con 0'04 U (BBL 31041) que permiten diferenciar estreptococos de los grupos A (Bacitracina sensible) y B (SXT y Bacitracina resistentes).

Se utiliza un inóculo cargado que permita crecimiento abundante y una vez realizada la siembra se colocan sobre la superficie del agar los discos de identificación. Considerandose sensibilidad a cualquiera de los antibióticos la presencia de alguna zona de inhibición.

- Producción de pigmento en anaerobiosis (99,168).

Las colonias fueron sembradas en medios de Islam y Granada (Sección 3.2.1) para observar producción de pigmento tras su incubación en anaerobiosis durante 24h-48h.

Estos medios se han utilizado además, para aislamiento de EGB por siembra directa de muestras clínicas y tras enriquecimiento en caldo selectivo en la identificación de portadores.

- Ecueta CAMP (121).

Se empleó una cepa hemclítica de *S. aureus*, frente a la que se probaron todos los aislamientos.

En placas de agar sangre carnero se realizó una siembra en estría con la cepa de estafilococo y perpendi-

cular a ella, sin tocarla, se inoculó el estreptococo, las placas se incubaron durante 24h. a 35° C. Observandose tras este tiempo, cuando la prueba era positiva un agrandamiento, en forma de cabeza de flecha, de la zona de hemólisis producida por *S. lauceus* (121,169).

- Hidrólisis de esculina y tolerancia a la bilis.

Bilis esculina agar: Agar con 40% de bilis y 0'1% de esculina (Difco 0879-01-7)

Este medio se inocula con dos o tres colonias y se incuba a 35°C. Si más de la mitad de la superficie se ennegrece en 24h. la prueba se considera positiva, y permite la diferenciar EGB de estreptococos del grupo D que hidrolizan la esculina (68).

- Tolerancia a la sal (ClNa 6'5%) (68).

Agar ClNa 6'5% con 1% de glucosa y 1'6% de rojo fenol.

El medio inoculado se incuba durante 24h. a 35°C., el crecimiento produce un cambio de color del indicador a amarillo.

- Hipurato de sodio (121).

A una suspensión densa (McFarland 2-3) de un cultivo de 18h. en 2 ml. de agua destilada se añaden 0'5 ml. de una solución al 5% de hipurato de sodio, incubando la mezcla a 37°C. durante 2h. tras las que se añade 1 ml. de ninhidrina, al 3'5% en acetona butanol 1/1, después de 10 minutos

se efectua la lectura: un color púrpura indica la presencia de glicina, es decir una reacción positiva.

Esta reacción, aunque característica de EGB, no es específica y pueden presentarla además aunque de forma menos constante, estreptococos de los grupos D, C, G y L.

- Identificación de grupo.

La detección del antígeno tipo específico se ha realizado mediante técnica de coagulación, utilizando reactivos comerciales: Phadebact Strep B test (Pharmacia Diagnostic AB, Uppsala, Sweden.).

En 0'5 ml. de caldo Todd-Hewitt se inoculan una o dos colonias del cultivo de prueba, y tras incubación en baño de 37°C. durante cuatro horas se obtiene crecimiento suficiente para la realización de la prueba (2-3 de la escala de McFarland). Sobre un portaobjetos una gota de esta suspensión se pone en contacto con una gota del reactivo, observando la presencia de una aglutinación visible después de una breve agitación manual.

3.2.4. - SISTEMAS CON BATERIAS DE PRUEBAS.

Se han empleado tres sistemas comerciales para la identificación de EGB.

1.-Vitek System, (McDonnell Douglas Health Systems Company):

Mediante lectura automática de la tarjeta GPI para

identificación de Gram positivos; esta tarjeta contiene 30 pocillos que incorporan 29 pruebas bioquímicas y un control positivo, la actividad hemolítica del microorganismo se señala en código aparte.

Cada uno de estos pocillos contiene:

1-Peptona base (control positivo)	2-Bacitracina	3-Optoquina.
4-Hemicelulosa	5-ClNa 6%	6-Bilis 10%
7-Bilis 40%	8-Esculina	9-Arginina. (control negativo)
10-Arginina	11-Urea	12-Rojo tetrazolio.
13-Novobiocina	14-Dextrosa	15-Lactosa.
16-Manitol	17-Rafinosa	18-Salicina.
19-Sorbitol	20-Sacarosa	21-Trehalosa.
22-Arabinosa	23-Piruvato	24-Pullulan.
25-Inulina	26-Melobiosa	27-Melecitosa.
28-Celobiosa	29-Ribosa	30-Xilosa.

Tras un ciclo de incubación de 4-15 horas se lleva a cabo la identificación, que viene dada en % de probabilidad, de acuerdo con la base de datos integrada en el software del sistema.

2.-API 20 Strep (Bio-Merieux):

Galeria de 20 microtubos que contienen sustratos deshidratados que permiten evaluar la actividad enzimática o de fermentación de azúcares, las pruebas estudiadas son:

1-Voges-Proskauer VP	2-Hipurato HIP	3-Esculina ESC
4-Pirrolidonil- arilamidasa PYRA	5-Alfa galactosidasa AlfaGAL	6-Beta glucuronidasa BetaGUR
7-Beta galactosidasa BetaGAL	8-Fosfatasa alcalina PAL	9-Leucina arilamidasa LAP
10-Arginina dihidrolasa ADH	11-Ribosa RIB	12-L-Arabinosa ARA
13-Manitol MAN	14-Sorbitol SOR	15-Lactosa LAC
16-Trehalosa TRE	17-Inulina INU	18-Rafinosa RAF
19-Almidón AMD	20-Glucógeno GLYG	(21-Hemólisis)

Estos microtubos se inoculan con una suspensión densa de un cultivo puro. Tras incubación de 18-24 horas a 35°C. se realiza la lectura, asignando un código de puntuaciones a cada grupo de tres pruebas, dando valor 1, 2 y 4 a cada prueba positiva en este orden. Esta suma permite obtener un índice de siete números octales con el que se realiza la identificación, según la base de datos del API-20 Strep.

3.- Sceptor MIC/ID Panel. (Becton-Dickinson):

Cada panel contiene 84 pocillos, 24 de ellos con sustratos bioquímicos deshidratados, que permiten la identificación y 58 con antibióticos. Otro de los pocillos contiene nitrocefina y otro se emplea como control de crecimiento.

Una suspensión bacteriana en caldo enriquecido: Sceptor Gram-Positive broth (Becton-Dickinson 80314) se emplea para inoculación de los pocillos, y siguiendo un periodo de incubación de 18h.-24h. a 37°C. se realiza la lectura, observando el crecimiento bacteriano en los pocillos que contienen antibióticos o un cambio de color en aquellos que contienen sustratos para pruebas bioquímicas.

Los sustratos incluidos son los siguientes:

Dextrosa	Pyroglutamato	Telurito	Celobiosa
D-Manitol	Leucina	Acetoina	D-Xylosa
Trehalosa	Bacitracina	Nitrato	Inulina
L-Arabinosa	Lactosa	Hipurato	D-Manosa
D-Sorbitol	Rafinosa	Fosfatasa	Novobiocina
Esculina	Sacarosa	Arginina	Urea

La lectura se realiza asignando valores a cada grupo de tres pruebas, de forma análoga al sistema API, con lo que se obtiene un código de números octales, que permite la identificación en la base de datos facilitada.

3.2.3. - SEROTIPOS.

La identificación de serotipos se ha realizado por reacción de precipitación capilar con los antisueros de los tipos Ia, Ib, Ic, II y III cedidos por el Dr. H.W. Wilkinson del CDC.

La extracción se realizó a partir de un cultivo de EGB de 18h.-24h. en caldo Todd-Hewitt. Los cultivos se centrifugaron a 3000 rpm durante 45' y el sobrenadante se descartó. Los sedimentos se resuspendieron en un pequeño volumen de N/5 ClH (preparado en salina 0'85%) y el pH se ajusta a 1'5 - 2'0 con N/5 ClH. La suspensión se mantuvo en baño de agua hirviendo durante 10', se dejó enfriar y el pH se ajustó nuevamente a 7'6 - 8'2 con N/5 NaOH (preparada en agua destilada) y se centrifugó a 4000 rpm durante 15'. El sobrenadante se decantó en un tubo limpio.

Con un tubo capilar se tomó del antisuero de 1/2 a un cm. de longitud e igual cantidad del extracto del cultivo a probar, los extremos del capilar se cerraron con plastilina y se incubó a temperatura ambiente durante 30', realizando lecturas de 5' en 5'.

Una reacción positiva se manifiesta por la formación de una nube blanca o anillo en la interfase suero - extracto.

3.3. - ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIOTICOS.

3.3.1.- C.M.I.

La CMI se ha determinado por el método de doble dilución en agar, incorporando las diferentes concentraciones de los antibióticos probados en agar Mueller Hinton suplementado con 2% de proteosa peptona (Oxoid). Las placas se inocularon con replicador de Steers, con un inóculo de 10^4 UFC. por spot, (0'001 ml.) partiendo de una suspensión de EGB con 10^7 UFC/ml.

El inóculo se estandarizó por espectrofotometría, ajustando una dilución de un cultivo de EGB en base logarítmica a una lectura de absorbancia de 0'31 a 620 nm. (Espectrofotometro Cecil mod. 373). Esta absorbancia corresponde a una concentración bacteriana de 10^7 UFC/ml, lo que se determinó tras diluciones seriadas y recuentos viables.

Los antibióticos probados y las concentraciones empleadas en ugr./ml. han sido:

Penicilina: 0'0025 - 2'4 (11 diluciones).

Amoxicilina: 0'0025 - 2'4 (11 diluciones).

Ampicilina: 0'0025 - 2'4 (11 diluciones).

Cefotaxima: 0'0025 - 2'4 (11 diluciones).

Ceftriaxona: 0'0025 - 2'4 (11 diluciones).

Eritromicina: 0'0025 - 2'4 (11 diluciones).

Vancomicina: 0'04 - 4'8 (8 diluciones).

Teicoplanina: 0'04 - 4'8 (8 diluciones).

Ofloxacina: 0'04 - 4'8 (8 diluciones).

Ciprofloxacina: 0'04 - 4'8 (8 diluciones).

Norfloxacina: 0'04 - 20 (10 diluciones).

Fleroxacina: 0'04 - 20 (10 diluciones).

Tras la inoculación, las placas se incubaron durante 18 horas a 37°C., realizándose posteriormente la lectura según pautas habituales (28,115).

3.3.2. - C.M.B. Y TOLERANCIA.

La CMI de Penicilina, Ampicilina y Cefotaxima, se realizó además en medio líquido utilizando placas micro-titer con igual medio.

En cada caso se emplearon diluciones dobladas del antibiótico probado, en un rango de 0'0025 ugr./ml.- 4'8 ugr./ml. para penicilina y de 0'005 ugr./ml.- 10 ugr./ml. en todos los demás.

Cada pocillo, con 0'15 ml de medio más antibiótico, se inoculó con 0'05 ml. de suspensión de EGB conteniendo 4×10^6 UFC/ml., de forma que en el volumen final del pocillo existían 10^6 UFC/ml.

Para la determinación de la C.M.B. se realizaron

subcultivos en medio de agar sangre, tomando 0'01 ml. de las diluciones superiores a la de la C.M.I. obtenida. Se consideró una cepa tolerante, cuando en el subcultivo de las diluciones con concentraciones de antibiótico superiores 16 veces la C.M.I., se desarrollaron más de 10 colonias, (mortalidad bacteriana menor del 99'9%).

3.4 - ESTUDIO DE ADHESIVIDAD.

La adhesividad de EGB a células epiteliales se ha estudiado en 200 cepas aisladas de productos patológicos procedentes de pacientes adultos (n=111) y de portadores y RN colonizados por EGB (n=89).

El ensayo se realizó, siguiendo la técnica de Nealon con algunas modificaciones (13,137).

Las suspensiones bacterianas, se prepararon a partir de cultivos de EGB en caldo Todd Hewitt, ajustando a una Absorbancia de 0'31 a 620 nm. (10^7 UFC/ml., sección 3.3.1)

Un ml. de suspensión bacteriana se centrifugó durante 15' a 4000 rpm. y el sedimento se resuspendió en el mismo volumen de Dulbecco PBS con Calcio y Magnesio (Oxoid BR 14a, Oxoid SR 39).

Se utilizaron dos líneas celulares: HeLa 229 (células epiteliales de cancer de cervix humano) y Hep-2 (células epiteliales de cancer de laringe humano). Las células se prepararon a una densidad entre 10^5 y $2 \cdot 10^5$ células/ml. y se colocaron sobre un cubreobjetos de 12 mm. de diametro,

en un tubo de 16 x 50 mm. de fondo plano, de tal forma que se obtienen monocapas semiconfluentes despues de 24h.- 48h. dispuestas para inocularse. Como medio de mantenimiento se utilizó MEN Eagle con sales de Earle con 10% de suero fetal bovino.

Tras decantar el medio de mantenimiento de la monocapa se añadió sobre la misma un ml. de la suspensión bacteriana, incubandose en agitacion suave a 37°C. durante 45'.

Para eliminar los microorganismos no adheridos, despues de decantar el inóculo, se realizaron dos lavados sucesivos de 5' en Dulbecco inclinando el vial suavemente varias veces en cada lavado.

Despues del último lavado la preparacion se fijó durante 10' con alcohol metílico, tras lo que se extrajo el cubreobjetos.

Una vez extraido, el cubreobjetos se secó con calor suave, se fijó a un portaobjetos con pegamento (DPX) y se realizó una tincion de Gram.

La observación se hizo al microscópio óptico con objetivo de inmersión.

Se estableció una escala de 0 - 4 para valorar la adhesividad de EGB a las células epiteliales:

0 = Ausencia de adhesividad.

1 = Adhesividad escasa. (25 - 50 bacterias / célula)

2 = Adhesividad moderada. (50 - 100 bacterias / célula)

3 = Adhesividad abundante. (más de 100 bacterias / célula)

4 = Adhesividad confluyente. (células tapizadas)

De cada preparación se observaron 50 campos.

3.5.- METODOS ESTADISTICOS.

El análisis estadístico se realizó utilizando las siguientes técnicas (9):

Intervalos de confianza = Media \pm 2 x Desviación estandar (M \pm 2DE).

Comparación de proporciones y tablas de contingencia:
Test χ^2

Comparaciones múltiples de medias: Análisis de varianza de una vía (ANOVA).

Dado que las medidas de adhesividad se han realizado en una escala ordinal, no son directamente aplicables las técnicas estadísticas paramétricas. Habiéndose utilizado en este caso para las comparaciones múltiples las siguientes técnicas (48):

1) Análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis.

2) Análisis de varianza de una vía (ANOVA) despues de efectuar una transformación a rangos.

Para las comparaciones de las adherencias de los distintos grupos de cepas con el grupo control (cepas de portadores), en el caso de detectarse diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con las técnicas 1 y 2, se ha utilizado el método de Dunnet (56), aplicandolo a los datos previamente transformados a rangos.

En todos los casos una $p < 0.05$, se consideró significativa.

R E S U L T A D O S

4.1 - ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO.

GRUPO I: Tasa de colonización por EGB en R.N.

Se estudió en un grupo de 100 RN normales y los resultados se presentan en la tabla IV.

La tasa encontrada ha sido del 5%. Todos los RN colonizados presentaron colonización en dos o las tres superficies muestreadas y en ningún caso fue preciso el enriquecimiento del cultivo previo al aislamiento para la detección de EGB.

En los cinco R.N. colonizados se aisló EGB del exudado ótico, en tres del exudado faríngeo y cuatro presentaron colonización umbilical.

En ningún RN se presentó patología aparente asociada al status de portador de EGB.

TABLA IV. TASAS DE COLONIZACION POR EGB EN R.N. SANOS.

	Número de cultivos positivos							
	Otico		Faringeo		Umbilical		Total	
	d	e	d	e	d	e		
GRUPO I (n=100)	5	5	3	3	4	4	5	
RN								

* d = Cultivo directo.

e = Cultivo tras enriquecimiento.

GRUPO II. Tasas de colonización en varones adultos.

De los 100 pacientes estudiados (sección 3.1.1, 29 recibieron tratamiento antibiótico durante o en los días previos al estudio y en este grupo no fue posible el aislamiento de EGB de ninguna de las muestras.

En los 71 restantes que no habían recibido antibióticos, EGB se aisló de cinco muestras de heces tras enriquecimiento en caldo selectivo. En ninguno de estos pacientes EGB se aisló de faringe.

Estos resultados se presentan en la tabla V.

De los pacientes colonizados, dos estaban recibiendo tratamiento con corticoides, dos tenían diagnosticada cirrosis hepática y el quinto fue un paciente en estudio por síndrome paraneoplásico.

La tasa de colonización del 5% para este grupo de población, llega al 7% si se excluyen los pacientes que recibían antibioterapia.

TABLA V. - TASAS DE COLONIZACION EN VARONES HOSPITALIZADAS SIN TRATAMIENTO ANTIBIOTICO.

	Número de cultivos positivos	
	Heces	Faríngeo
GRUPO II. (n=71)		
Varones	5	0
% =	7	0

GRUPO III: Tasas de colonización por EGB en gestantes.

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla VI.

La edad media del grupo fue de 28'5 años (rango = 16 - 41 años) y la edad gestacional media fue de 38'5 semanas (rango = 35 - 42 semanas)

De las 100 gestantes estudiadas (sección 3.1.1), en 17 se aisló EGB de vagina y/o región perineal, con tasas de colonización del 9% (vaginal) y del 16% (perineal), con el empleo de medio de enriquecimiento selectivo para EGB, siendo del 8% y 13% cuando no se emplearon estos medios.

Ocho mujeres presentaron colonización vaginal y perianal simultánea. En seis EGB se aisló por cultivo directo de las muestras, y sólo en dos casos EGB se aisló tras el enriquecimiento en caldo de alguna de las dos muestras.

Sólo en un caso encontramos colonización vaginal por EGB, sin que al mismo tiempo pudiera demostrarse su presencia en periné o heces.

De las 16 mujeres con colonización perineal, en tres sólo pudo aislarse EGB tras enriquecimiento de la muestra, aunque una de estas presentaba colonización vaginal al mismo tiempo.

En el 21% de los casos EGB se aisló de muestra de heces, ocho presentaron al mismo tiempo colonización vaginal y perianal y otras ocho sólo perianal, en otros cinco casos la localización intestinal fue la única encontrada.

En ninguna de estas pacientes se aisló EGB de faringe.

GRUPO IV: Tasas de colonización por EGB en mujeres menopáusicas y premenopáusicas.

Los resultados se presentan en la tabla VI. La edad media del grupo fue de 56'3 años +/- 8'2 años.

De las 100 mujeres estudiadas (sección 3.1.1), 17 presentaron colonización vaginal y/o perianal con tasas del 14% y del 12% respectivamente con el empleo de medios selectivos y del 10% y 6% sin ellos.

Nueve mujeres presentaban colonización vaginal y perianal, en cinco casos el aislamiento de EGB de alguna de las dos muestras se realizó tras enriquecimiento.

Colonización vaginal pero no perineal se presentó en cinco casos, en dos de ellos no fue posible el aislamiento sin enriquecimiento previo del cultivo.

Sólo tres pacientes presentaron, colonización perineal sin colonización vaginal y en los tres casos el aislamiento de EGB se realizó tras enriquecimiento.

EGB se aisló de heces en el 18% de las mujeres estudiadas. De las que presentaron colonización en otras áreas sólo en dos no pudo aislarse EGB de la muestra de heces y las dos presentaban únicamente colonización vaginal.

Otras tres pacientes presentaron, de forma aislada, EGB en heces.

En ninguna de las pacientes de este grupo, se aisló EGB en faringe.

GRUPO V. Tasas de colonización en mujeres hospitalizadas.

Los resultados se presentan en la tabla VI.

La edad media del grupo fue de 53'5 años \pm 15'4 años.

De las 100 pacientes estudiadas (sección 3.1.1), habían recibido tratamiento antibiótico previo 16 y en ninguna de estas se encontró colonización. De las 84 restantes, seis presentaron colonización vaginal y perineal por EGB, otras tres eran portadoras de EGB en vagina sin colonización perianal simultánea y otras cuatro pacientes con colonización perineal no presentaron al mismo tiempo colonización vaginal.

En cinco casos con colonización perineal el aislamiento de EGB no pudo realizarse por cultivo directo y requirió enriquecimiento previo, aunque uno de ellos presentaba al mismo tiempo colonización vaginal, otras tres muestras vaginales también precisaron enriquecimiento.

En doce mujeres con colonización vaginal y/o perianal EGB se aisló de la muestra de heces. En otras dos pacientes la colonización intestinal se presentó de forma aislada.

Entre las portadoras las patologías más frecuentemente encontradas fueron: diabetes (3 casos), hepatopatía crónica (2 casos) e inmunosupresión por tratamiento con corticoides (1 caso).

La tasa de colonización vaginal y/o perineal obtenida en este grupo de población fue del 13%, y del 15'4% si se excluyen del grupo las mujeres que recibían tratamiento anti-

biótico.

La tasa total de colonización del 15% se situa en el 17'8% al excluir el grupo de mujeres tratadas.

Tampoco se encontró colonización faríngea en ninguna de las pacientes de este grupo.

TABLA VI. TASAS DE COLONIZACION POR EGB EN MUJERES.

	Numero de cultivos positivos					
	Vaginal		Perianal		Heces	Total
	d	e	d	e	e	
GRUPO III (n=100) Gestantes	8	9	13	16	21	22
GRUPO IV (n=100) Menopausicas	10	14	6	12	18	20
GRUPO V (n=100) Hospitalizadas Sin tratamiento (n=84)	6	9	5	10	14	15
TOTAL (n=284)	24	32	24	38	53	57
	(8'4%)(11%)		(8'4%)(13'3%)		(18'6%)	(20%)

$$\chi^2 = 0'49 \quad p > 0.05$$

* d = Siembra directa.

e = Siembra tras enriquecimiento.

4.2.- ESTUDIO CLINICO.

Los pacientes estudiados se presentan en las tablas VII a XVI agrupados segun localización de la infección.

En la tabla VII se presenta un resumen general. En las tablas VIII y IX se presenta la distribución de la infección por EGB en adultos por grupos de población y según localización de la infección. En las tablas X a XVI se presenta un resumen individualizado de las características mas sobresalientes de los 110 casos estudiados de infección por EGB en adultos.

Hubo ocho infecciones severas de diferente localización que en la mayoría de los casos cursaron con bacteriemia, que vamos a denominar como "infecciones graves" y se han incluido en un grupo aparte (Tabla XVI). Tambien se incluyen aparte por la frecuencia con que se han presentado, las infecciones urinarias en gestantes (Tabla X). Como "infecciones relacionadas con la gestación" se designan, las que se presentaron en gestantes o en el periodo puerperal.

La infección urinaria fue la mas frecuente en nuestra serie, 53'6% de los casos, seguida por la infección de heridas quirúrgicas 18'2%, infección de úlceras isquémicas 11'8% e infecciones del tracto genital en varones 9% .

TABLA VII (General) DISTRIBUCION DE LA INFECCION POR EGB
SEGUN LOCALIZACION

Tipo de infección (grupo)	número de casos (n)	Edad (años)		
		rango	Media	d.e
1. Inf. Urinarias (n=59)				
- Gestantes	25	15-38	26'9	5'8
- Mujeres no gestantes	30	20-82	51'2	17'7
- Varones	4	21-75	44'2	24'6
2. Inf. Heridas quirúrgicas (n=20)				
- Mujeres (n=9)				
Relacionadas con la gestación.	6	17-35	29'1	6'2
Otras	3	32-50	42'3	9'2
- Varones	11	29-69	55'2	13'1
3. Inf. Ulceras isquémicas Patología vascular (n=13)				
- Mujeres	6	24-78	56'8	20'7
- Varones	7	33-68	51'4	11'5
4. Inf. Genitales (varones)	10	20-52	31'8	11'7
5. Infecciones graves (n=8)				
-Mujeres (n=6)				
Relacionadas con la Gestación	2	17-26	21'5	6'3
Otras	4	19-58	38'7	22'2
-Varones	2	68-72	70	2'8
TOTAL	110			

TABLA VIII. RESUMEN DE LA DISTRIBUCION POR GRUPOS DE POBLACION DE LA INFECCION POR EGB EN ADULTOS

Tipo de Infección (Grupo)	Edad		
	Rango	Media	d.e.
Inf. relacionadas con la gestación. (n=33)	15-38	27	5'9
Inf. no relacionadas con la gestación. (n=67)	19-82	51'6	17'2
Inf. genitales en varones (n=10)	20-52	31'8	11'7

F = 35'7 p < 0'01

TABLA IX. INFECCIONES POR EGB EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE POBLACION, SEGUN LOCALIZACION.

Tipo de infección	número de casos (n)	Edad		
		rango	Medi \bar{a}	d.e
Inf. relacionadas con la gestación (n=33)				
Inf. urinarias	25	15-38	27	5'8
Inf. heridas quirurgicas	6	17-35	29'1	6'2
Inf. graves	2	17-26	21'5	6'3
Inf. no relacionadas con la gestación (n=68)				
Inf. urinarias	34		50'6	18'1
Inf. heridas quirurgicas	14		53'2	13'4
Inf. ulceras isquemicas	13		53'9	15'9
Inf. graves	6		49	23'6
Inf. genitales en varones	10	20-52	31'8	11'7

4.2.1.- INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO (ITU).

De los 110 pacientes estudiados, 59 presentaron ITU (53'6%), cuatro varones y 55 mujeres, de ellas 25 (43'2%) gestantes (embarazo y puerperio). La media de edad fue de 44 años para los varones, de 51 años en mujeres no gestantes y 26'9 años en gestantes. Después del diagnóstico, se inició tratamiento durante diez días, en general, con amoxicilina. Realizándose un segundo urocultivo de control a los diez días.

Los resultados se presentan en las tablas X a XII.

4.2.1.1.- IIU en gestantes (Tabla X).

En gestantes la ITU cursó de forma asintomática en 18 casos, en los que el urocultivo se realizaba como control.

De estas 18 ITU en gestantes, sin clínica, 13 presentaban leucocituria (10 ó más leucocitos/mm³) y otras cinco presentaron bacteriuria asintomática con presencia de EGB en orina en recuentos mayores o iguales a 10000 UFC/ml. en ausencia de clínica de ITU y de leucocituria, a tres de estas se les realizó punción suprapúbica y EGB pudo aislarse de la orina vesical.

Otras siete pacientes, seis gestantes y una puerpera, eran sintomáticas (con síntomas de ITU), en una de ellas EGB se aisló junto con *E. coli* y en otra junto a *C. albicans* y todas presentaron leucocituria.

El segundo urocultivo de control al cabo de diez días,

resultó negativo en todos los casos.

Todas las pacientes, excepto una puerpera con diagnóstico de pielonefritis y que había recibido tratamiento previo con Amoxicilina y Tobramicina, presentaban colonización por EGB en una o mas áreas de las estudiadas.

TABLA X - INFECCIONES URINARIAS EN GESTANTES Y PUERPERAS (n=25).

CASO H/A*	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	ORINA**	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (29Cultivo)	EVOLUCION CLINICA	SEROTIPO
1A	M 21	Gestación	Cistitis	No	50000 EGB 200 l+ 200 h	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	III
2A	M 27	Gestación	No Control	No	100000 EGB >1000 l	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
3A	M 23	Gestación	Cistitis	No	50000 EGB 500 l	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	III
4A	M 29	Gestación	No Control	No	100000 EGB 20 l+ 20 h	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	II
5A	M 20	Gestación	No Control	No	50000 EGB 80 l	Vaginal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	III
6A	M 30	Gestación	Cistitis (fiebre)	No	100000 EGB 50000 C.albicans 400 l	Vaginal Perianal	Amoxicilina+ Miconazol tópico	Erradicación	Curación	II

* H/A = Hospitalizadas/Ambulatorias

** u.f.c./ml.

l = Leucocitos/mm.c.

h = Hematíes/mm.c.

TABLA X - (Continuación) INFECCIONES URINARIAS EN GESTANTES Y PUERPERAS

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	ORINA	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (2º cultivo)	EVOLUCION CLINICA	SEROTIPO
7A	M 37	Gestación	No Control	No	100000 EGB	Vaginal Perianal Orina vesical	Amoxicilina	Erradicación	Curación	II III
8A	M 38	Gestación	No Control	No	50000 EGB 150 l + 210 h	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	NT
9A	M 28	Gestación	No Control	No	50000 EGB	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	NT
10A	M 15	Gestación	No Control	No	50000 EGB+ 100000 E.coli	Vaginal Perianal Orina vesical	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
11A	M 26	Gestación	No Control	No	50000 EGB 200 l	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
12A	M 21	Gestación	Cistitis	No	100000 EGB 80 l	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	III

TABLA XI - (Continuación) INFECCIONES URINARIAS EN GESTANTES Y PUERPERAS

CASO H/A	SEYO	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	ORINA	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (20Cultivos)	EVOLUCION CLINICA	SEROTIPO
13A	M 30	Gestacion	Cistitis	No	100000 EGB+ 100000 E.coli 150 l	Periana	Amoxicilina	Erradicación	Curacion	III
14A	M 29	Gestacion	No Control	No	50000 EGB 160 h	Vaginal Periana	Amoxicilina	Erradicación	Curacion	Ia
15A	M 28	Gestacion	No Control	No	10000 EGB	Vaginal Periana	Amoxicilina	Erradicación	Curacion	Ia
16A	M 22	Gestacion	No Control	No	100000 EGB	Vaginal	Amoxicilina	Erradicación	Curacion	NT
17A	M 28	Gestacion	No Control	No	50000 EGB+ 50000 E.coli 25 l + 10 h	Vaginal	Amoxicilina	Erradicación	Curacion	III
18A	M 38	Gestacion	No Control	No	50000 EGB 20 l	Vaginal	Amoxicilina	Erradicación	Curacion	III

TABLA X - (Continuación) INFECCIONES URINARIAS EN GESTANTES Y PUERPERAS.

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	ORINA	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (20cultivos)	EVOLUCION CLINICA	SEROTIPO
19A	M 20	Gestación	No Control	No	50000 EGB 20 l	Vaginal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
20A	M 24	Gestación	Cistitis (fiebre)	No	50000 EGB 200 l	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
21A	M 27	Gestación	No Control	No	50000 EGB	Vaginal Perianal Orina vesical	Amoxicilina	Erradicación	Curación	III
22A	M 34	Gestación	No Control	No	50000 EGB 50 l	Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
23A	M 27	Gestación	No Control	No	100000 EGB 40 l	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
24A	M 26	Gestación	No Control	No	50000 EGB+ 100000 E.coli 80 l	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
25H	M 26	Puerperio	Pielonefritis	Amoxicilina Tobramicina	50000 EGB 250 l	No	Amoxicilina Tobramicina	Erradicación	Curación	Ia

4.2.1.2.- ITU en mujeres no gestantes (Tabla XI).

Fuera del periodo gestacional 30 mujeres presentaron infección urinaria por EGB, entre ellas no se presentó ningún caso de bacteriuria asintomática, todas cursaron con clínica de infección y leucocituria y/o hematuria.

De los 30 casos de ITU, en mujeres fuera del periodo gestacional, sólo en 18 no se dieron antecedentes clínicos destacables, todos los demás presentaron alguna condición previa favorecedora de la infección, las más frecuentes fueron malformación o manipulación urológica previa y diabetes mellitus, con menor frecuencia se presentaron otras patologías subyacentes como cardiopatía o Kala-azar.

En dos casos, EGB se aisló junto con *E. coli*, en los demás EGB se aisló como único microorganismo. En dos pacientes no fue posible demostrar colonización vaginal y/o perineal por EGB, una paciente diabética que había sido tratada, previamente, con amoxicilina y una mujer de edad avanzada de la que no se pudieron obtener estas muestras.

Todas las demás presentaban colonización vaginal y/o perineal por EGB, a pesar de haber recibido tratamiento en algunos casos.

El segundo urocultivo de control, resultó negativo en todos los casos. En dos mujeres (casos 27 y 35), una de ellas con una uropatía obstructiva se presentó nuevamente una infección urinaria por EGB (igual serotipo), 10 y 15 meses después del primer episodio

TABLA XI - INFECCIONES URINARIAS EN MUJERES (no relacionadas con la gestacion) (n = 30)

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	ORINA*	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (20Cultivos)	EVOLUCION CLINICA	SEROTIPO
26A	M 29	No	Cistitis	Norfloxacina	100000 EGB+ 100000 E.coli 20 l	Vaginal Periana]	Norfloxacina	Erradicación	Curación	Ia
27A	M 38	No	Cistitis	No	50000 EGB 40 l	Vaginal Periana]	Amoxicilina	Erradicación	Reinfección (a los 10 meses)	Ia
28A	M 39	No	Cistitis	No	100000 EGB 120 l	Vaginal Periana]	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
29A	M 67	Prolapso vesical	Cistitis (fiebre)	No	100000 EGB 1000 l	Vaginal Periana]	Ampicilina	Erradicación	Curación (cirugía)	Ia
30A	M 33	No	Cistitis	No	50000 EGB 50 l + 20 h	Vaginal Periana]	Ampicilina	Erradicación	Curación	Ia
31A	M 79	Kala-azar	S. febril	No	100000 EGB 250 l	Vaginal Periana]	Específico +Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia

* u.f.c./ml.
l = Leucocitos/mmc
h = Hematíes/mmc

TABLA XI - (Continuación) INFECCIONES URINARIAS EN MUJERES (no relacionadas con la gestación)

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	ORINA	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (20 Cultivo)	EVOLUCION CLINICA	SEROTIPO
32A	M 20	No	Cistitis	No	50000 EGB 40 l	Vaginal Perianal	Furantoína	Erradicación	Curación	III
33A	M 34	No	Cistitis (fiebre)	No	100000 EGB+ 100000 E.coli 40 l + 10 h	Perianal	Ac.pipemídico	Erradicación	Curación	III
34A	M 82	Diabetes	Lumbalgia	No	100000 EGB 20 l + 80 h	No hecho	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
35A	M 21	Litiasis renal	Colico nefrítico	No	100000 EGB 50 l + 100 h	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Reinfección (a los 15 meses)	Ia Ia
36A	M 54	No	Cistitis	No	200000 EGB 40 l + 160 h	Vaginal	Ac.pipemídico	Erradicación	Curación	III
37A	M 60	No	Cistitis (fiebre)	No	50000 EGB 120 l	Vaginal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	II

TABLA XI - (Continuación) INFECCIONES URINARIAS EN MUJERES (no relacionadas con la gestación)

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	ORINA	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (20 Cultivo)	EVOLUCION CLINICA	SEROTIPO
38A	M 45	No	Cistitis	No	50000 EGB 40 l	Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
39A	M 48	Neurocirugia Sondaje	Cistitis (fiebre)	No	100000 EGB 200 l	Vaginal Perianal	Ampicilina + Gentamicina	Erradicación	Curación	1a
40A	M 74	Diabetes	Cistitis (fiebre)	No	100000 EGB	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	NT
41A	M 60	No	Cistitis (fiebre)	No	50000 EGB 100 l + 50 h	Perianal	Furantoína	Erradicación	Curación	III
42A	M 65	Diabetes	Cistitis (fiebre)	No	100000 EGB 50 l	Perianal	Fosfomicina	Erradicación	Curación	III
43A	M 64	No	Cistitis	No	50000 EGB 40 h	Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	III

TABLA XI - (Continuación) INFECCIONES UTERINAS EN MUJERES (no relacionadas con la gestación)

CASO H/A	SEXO	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	ORINA	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (2º cultivo)	EVOLUCION CLINICA	SEROTIPO
46H	M	75 Diabetes	Cistitis (fiebre)	No	100000 EGB 260 l	Periana	Norfloxacina	Erradicación	Curación	III
45A	M	60 No	Cistitis	Norfloxacina	100000 EGB 25 l +10 h	Vaginal	Norfloxacina	Erradicación	Curación	III
46A	M	41 No	Cistitis (fiebre)	No	100000 EGB 150 l	Vaginal Periana	Furantoína	Erradicación	Curación	Ic
47A	M	49 No	Cistitis	No	100000 EGB	Vaginal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
48A	M	76 Diabetes	Cistitis (fiebre)	Amoxicilina	50000 EGB 80 l	No	Amoxicilina	Erradicación	Curación	III
49A	M	53 Hipertension arterial	Cistitis (fiebre)	No	50000 EGB 100 l	Periana	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia

TABLA XI - (Continuación) INFECCIONES URINARIAS EN MUJERES (no relacionadas con la gestación)

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	ORINA	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (2º Cultivo)	EVOLUCION CLINICA	SEROTIPO
50A	M 37	Infecciones urinarias repetición	S. febril	No	50000 EGB 250 l	Vaginal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	III
51A	M 34	No	Cistitis (fiebre)	No	100000 EGB 200 l	Vaginal Perianal	Fosfomicina	Erradicación	Curación	Ib
52H	M 58	No	S. febril	No	50000 EGB 200 l + 200 h	Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	II
53H	M 65	S. Anémico	Cistitis	No	50000 EGB 50 l + 50 h	Vaginal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ic
54A	M 50	No	Cistitis	Nihil	200000 EGB 250 h	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
55A	M 26	No	Cistitis	No	100000 EGB 100 l	Vaginal Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia

4.2.1.3.- IIU en varones (Tabla XII).

La infección del tracto urinario por EGB en varones se presentó con menor frecuencia que en mujeres (cuatro casos) y en todos existía patología previa del tracto genitourinario favorecedora de la infección: Uropatía obstruictiva, prostatismo e hidronefrosis y a un paciente con una cardiopatía congénita se le había realizado un sondaje vesical en los días anteriores. En los cuatro casos EGB se aisló, además en muestra de heces o frotis perianal.

Después de finalizado el tratamiento, el urocultivo de control fue negativo en los cuatro casos. Uno de los pacientes (caso 57) presentó posteriormente una reinfección por *E. coli*.

TABLA XII - INFECCIONES URINARIAS EN VARONES (n=4).

CASO H/A	SEXO	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	ORINA*	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (20Cultivos)	EVOLUCION CLINICA:	SEROTIPO
56H	V 21	Hidronefrosis	S.febriil	Amoxicilina	100000 EGB+ 100000 K.pneumoniae 1000 l	Periana	Ampicilina Cirugia	Erradicación	Curación	Ia
57A	V 53	Uropatia obstructiva	Cistitis (fiebre)	Amoxicilina	10000 EGB 200 l	Periana	Amoxicilina	Erradicación	Reinfeccion (<u>E.coli</u>)	Ia
58A	V 75	Prostatismo	S.febriil	No	100000 EGB 100 l	Periana Heces	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Ia
59H	V 28	Cardiopatía Sondaje	Cistitis (fiebre)	No	100000 EGB 150 l	Heces	Amoxicilina	Erradicación	Curación	III

* u.f.c./ml.
l = leucocitos/mm³

4.2.2. INFECCIONES DE HERIDAS QUIRURGICAS.

Se muestran en la tabla XIII.

Representan el 18'2% de las infecciones estudiadas en nuestra serie. El papel patógeno de EGB en cada caso se valoró atendiendo a la presencia de signos y síntomas de infección y a la respuesta al tratamiento. Aunque en la mayoría de los casos presentados EGB se aisló junto con otros microorganismos, se consideró significativo a pesar de no ser posible establecer, de forma terminante, la responsabilidad individual de cada uno de los aislados como agentes causales de infección.

Nueve mujeres (45%), de ellas seis gestantes, y once varones (55%) presentaron infección de la herida quirúrgica durante su estancia hospitalaria. La media de edad de los pacientes fue de 56 años en varones, 29 años en mujeres gestantes y 42 años en mujeres no embarazadas.

Las infecciones más frecuentes fueron las de heridas tras cirugía abdominal (45%) y de estas las más frecuentes fueron infecciones de heridas tras intervención de cesárea (seis casos), en dos de estas pacientes EGB se aisló del exudado purulento de la herida como único microorganismo, en otra junto a *S. epidermidis* y en los otros tres casos se encontraron más de dos germenés, encontrándose siempre *B. fragilis*. En todos los casos se presentó colonización por EGB en vagina y/o periné.

Otros dos casos también relacionado con cirugía ginecológica, aunque no en gestantes, fueron la infección de

una herida tras histerectomía total y la infección de la herida producida al realizar una laparatomía para extirpación de un quiste ovarico, estas dos mujeres eran también portadoras vaginales de EGB.

Un varón (caso 74), con un carcinoma pancreático presentó infección de la herida tras cirugía paliativa. Excepto la paciente histerectomizada que presentaba una diabetes, en ningún otro caso existían antecedentes de interés salvo la cirugía previa o la patología que la motivó.

Las siguientes infecciones en orden de frecuencia fueron las de heridas producidas por cirugía de la cara y cuello (15%) todas se presentaron en varones: En un caso tras cirugía maxilofacial reparadora después de la extirpación de un basalioma, otro presentaba infección de la herida de traqueotomía por un carcinoma laríngeo y el tercero había sido intervenido por un carcinoma parotideo.

El proceso que motivó la intervención en cada caso es el único antecedente destacable en este grupo de pacientes.

Con la misma frecuencia (15%) se han presentado infecciones de heridas tras cirugía cardiovascular, también en varones, localizadas en miembros inferiores tras resección venosa por intervención de by-pass; dos de estos pacientes eran diabéticos y el tercero no presentaba otros antecedentes.

Otros cinco casos se dieron en pacientes que habían sufrido intervenciones por procesos diferentes: un quiste

pilonoidal, un carcinoma epidermoide de pene, una herida quirúrgica en un politraumatizado y dos abscesos glúteos en dos diabéticos.

Todas las mujeres de este grupo presentaron colonización vaginal y/o perineal por EGB. Entre los varones uno intervenido por un carcinoma pancreático y un paciente diabético con un absceso glúteo eran también portadores de EGB (55%).

En tres casos EGB se aisló del exudado de herida como único microorganismo, en todos los demás se encontraron cultivos mixtos siendo *S. aureus* y *Bacteroides fragilis* los más frecuentemente asociados.

Se obtuvo una segunda muestra, cuatro días después del aislamiento inicial para valorar la respuesta al tratamiento establecido y seguir la evolución bacteriológica. En cuatro pacientes, uno de ellos diabético y dos con carcinomas, EGB persistía a pesar de tratamiento médico adecuado, en un caso asociado a *S. aureus* en otro junto a *E. coli* y en dos como único microorganismo; en todos estos casos se continuó tratamiento antibiótico que consiguió la erradicación de EGB.

TABLA XIII - INFECCIONES DE HERIDAS QUIRURGICAS (n=23)

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	ENCUADRO HERIDA*	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (29 Cultivo)	EVOLUCION CLINICA **	EVOLUCION BACTERIOLOGICA (29 Cultivo)	SEROTIPO
60H	17 M	Cesárea	Inf. herida quirurgica	Amoxicilina+ Gentamicina	EGB+B.fragilis+ E.faecalis L (+)	Vaginal Perianal	Amoxicilina+ Gentamicina+ Metronidazol	Erradicación	Curación	negativo	Ia
61H	63 V	Cirugía vascular Diabétes	Inf. herida pierna	Cefazolina	EGB+S.aureus L (+)	No	Cloxacilina	Erradicación	=	<u>S.aureus</u>	III
62H	45 M	Laparotomía	Inf. herida abdominal	Amoxicilina+ Tobramicina	EGB+E.coli+B.fragilis+ Peptostreptococcus spp. L (+)	Vaginal	Tobramicina+ Metronidazol	Erradicación	Curación	negativo	III
63H	50 M	Histerec- tomía Diabétes	Inf. herida abdominal	No	EGB+P.mirabilis L (+)	Vaginal Perianal	Ampicilina+ Gentamicina	Erradicación	Curación	negativo	II
64H	32 M	Cesárea	Inf. herida quirurgica	No	EGB+E.coli+B.fragilis+ B.melaninogenicus L (+)	Vaginal Perianal	Amoxicilina+ Gentamicina+ Metronidazol	Erradicación	Curación	negativo	Ia

* L (+) = Presencia de leucocitos.

** = Situación clínica sin cambio

TABLA XIII - INFECCIONES DE HERIDAS QUIRURGICAS (Continuación)

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	EXUDADO HERIDA	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (20 Cultivo)	EVOLUCION CLINICA	EVOLUCION BACTERIOLOGICA (20 cultivo)	SEROTIPO
65H	62 V	Cirugía vascular Diabétes	Inf. herida pierna	No	EGB+ <u>E. faecalis</u> L (+)	No	Antiséptico local	Erradicación	Curación	negativo	Ia
66H	48 V	Ca. laringeo	Inf. herida traqueotomía	No	EGB+ <u>S. aureus</u> L (+)	No	Ceftriaxona	Persistencia	=	EGB + <u>S. aureus</u>	III
67H	56 V	Cirugía máxilofacial Basalioma	Inf. herida cara	Amoxicilina	EGB+ <u>P. mirabilis</u> L (+)	No	Amoxicilina+ Tópico	Erradicación	=	<u>P. mirabilis</u>	Ia
68H	36 V	Cirugía máxilofacial Ca. protóideo	Inf. herida cara	Ampicilina	EGB+ <u>P. aeruginosa</u> L (+)	No	Ampicilina+ Tópico	Erradicación	=	<u>S. aureus</u>	Ia
69H	31 M	Cesárea	Inf. herida quirúrgica	Amoxicilina+ Gentamicina	EGB+ <u>S. aureus</u> + <u>E. coli</u> <u>B. fragilis</u> L (+)	Vaginal Perianal	Amoxicilina+ Gentamicina	Erradicación	Curación	Negativo	III

TABLA XIII - INFECCIONES DE HERIDAS QUIRURGICAS (Continuacion)

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	EXUDADO HERIDA	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (2oCultivo)	EVOLUCION CLINICA	EVOLUCION BACTERIOLOGICA	SEROTIPO
70H	30 M	Cesárea	Inf. herida quirúrgica	Amoxicilina+ Clavulanico	EGB+S.epidermidis L (+)	Vaginal Periana	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Negativo	Ia
71H	65 V	Ca.epider- moide pene	Inf. herida quirúrgica	Ampicilina+ Gentamicina	EGB+S.aureus + Peptostreptococcus spp. L (+)	No	Cloxacilina+ Metronidazol	Persistencia	=	<u>E.coli</u> +EGB	III
72H	59 V	Quiste pilonoidal Diabetes	Inf. herida quirúrgica	No	EGB+P.mirabilis+ P.aeruginosa L (+)	No	Quirúrgico+ Amoxicilina	Persistencia	=	EGB	II
73H	65 V	Diabetes Absceso glúteo	Inf. herida drenaje	No	EGB L (+)	Periana Heces	Antiséptico local	Erradicación	Curación	Negativo	Ia
74H	66 V	Ca.pancreá- tico	Inf. herida Abdominal	Ceftriaxona	EGB+S.aureus+ P.aeruginosa L (+)	Periana	Cloxacilina+ Cefotaxima	Erradicación	Curación	Negativo	III

TABLA XIII - INFECCIONES DE HERIDAS QUIRURGICAS (Continuacion)

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	EXUDADO HERIDA	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (20 cultivo)	EVOLUCION CLINICA	EVOLUCION BACTERIOLOGICA (20 cultivo)	SEROTIPO
75H	29 V	Politraum.	Absceso pierna	Tobramicina Eritromicina	EGB L (+)	No	Eritromicina	Erradicación	Curación	Negativo	II
76H	35 M	Cesárea	Absceso de pared	No	EGB L (+)	Vaginal	Amoxicilina+ Gentamicina	Erradicación	Curación	Negativo	III
77H	30 M	Cesárea	Inf. herida quirúrgica	Amoxicilina+ Gentamicina	EGB L (+)	Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Negativo	III
79H	69 V	Cirugía vascular	Inf. herida pierna	No	EGB+ <u>S.aureus</u> L (+)	No	Cloxacilina	Persistencia	=	EGB	Ia
79H	32 M	Diabetes absceso glúteo	Inf. herida drenaje	No	EGB+ <u>E.faecalis</u> <u>K.pneumoniae</u> L (+)	Perianal	Ampicilina	Erradicación	Curación	Negativo	Ia

4.2.3.- INFECCIONES EN PACIENTES CON PATOLOGIA VASCULAR PERIFERICA.

Se presentan en la tabla XIV.

En este grupo hemos incluido aquellas infecciones que se presentaron en pacientes, en su mayoría, diabéticos con afectación vascular periférica que presentaron infecciones de úlceras isquémicas localizadas en miembros inferiores.

Son 13 casos, que suponen en nuestra serie, el 11'8% de las infecciones por EGB; siete varones (53'8%) y seis mujeres (46'2%). La media de edad fue de 54 años (rango = 24 - 78 años). Sólo en el caso de una politraumatizada con una úlcera de decúbito no se encontraron otros antecedentes, los demás eran todos pacientes diabéticos con isquemia crónica de miembros inferiores que presentaron infección de úlceras en esta localización y en un caso infección de una prótesis axilopoplitea.

La valoración de la infección, en cada caso, se ha realizado por el estado clínico del paciente y la purulencia de la muestra.

En cuatro casos EGB se aisló como único microorganismo y cuando se presentó con otros el más frecuentemente asociado fue *S. aureus*.

Fue posible demostrar colonización vaginal o rectal por EGB en tres pacientes, un varón y dos mujeres, una de ellas (caso 87) es la única paciente no diabética incluida en este grupo y que presentaba una úlcera de decúbito de la

que se aisló EGB, la otra paciente era una mujer de 64 años con una ulcera plantar (caso 85); ninguno de los tres había recibido previamente tratamiento antibiótico.

Dadas las características de los pacientes, la mayoría, precisaron tratamiento quirúrgico consiguiéndose la erradicación de EGB en todos los casos.

TABLA XIV - INFECCIONES EN PACIENTES CON PATOLOGIA VASCULAR PERIFERICA (n = 13)

CASO H/A	SEXO	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	MUESTRA FUNDAMENTAL*	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (20 Cultivo)	EVOLUCION CLINICA**	EVOLUCION BACTERIOLOGICA (20 Cultivo)	SEROTIPO
80H	53 V	Diabétes	Úlcera isquémica pie	Amoxicilina	Exudado úlcera EGB+S.aureus+P.mirabilis+ B.fragilis L (+)	No	Cirugía+ Ampicilina	Erradicación	Curación	Negativo	Ia
81H	39 M	Diabétes	Úlcera isquémica pie	Ampicilina+ Gentamicina	Exudado úlcera EGB+P.aeruginosa+C.per- fringens+B.melaninogenicus L (+)	No	Cirugía+ Amoxicilina	Erradicación	Curación	Negativo	Ia
82H	53 V	Diabétes	Inf.prótesis axilopólitica	Penicilina Amikacina Cefotaxima	Exudado periprotésico EGB+P.mirabilis+S.aureus L (+)	No	Cirugía+ Cloxacilina+ Amikacina	Erradicación	=	<u>S.aureus</u>	III
83H	33 V	Diabétes	Úlcera isquémica pie	No	Exudado úlcera EGB+S.aureus+P.faecalis L (+)	No	Cloxacilina+ Tobramicina	Erradicación	Curación	Negativo	Ia
84H	63 M	Diabétes	Úlcera isquémica pie	Penicilina	Exudado úlcera EGB L (+)	No	Cirugía	Erradicación	Curación	Negativo	III

9 TABLA XIV - INFECCIONES EN PACIENTES CON PATOLOGIA VASCULAR PERIFERICA (Continuación)

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	MUESTRA FUNDAMENTAL*	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (20 cultivo)	EVOLUCION CLINICA**	EVOLUCION BACTERIOLOGICA (20cultivo)	SEROTIPO
85H	69 M	Diabétes	Úlcera plantar	No *	Exudado úlcera EGB <u><i>S. aureus</i></u> L (+)	Perianal	Cirugía + Gentamicina	Erradicación	=	<u><i>S. aureus</i></u>	Ia
86H	78 M	Diabétes	Úlcera isquémica pie	Eritromicina	Exudado úlcera EGB <u><i>P. aeruginosa</i></u> <u><i>H. fra-</i></u> <u><i>gillis</i></u> <u><i>H. melaninogenicus</i></u> L (+)	No	Cirugía + Penicilina Amikacina	Erradicación	=	<u><i>S. aureus</i></u>	Ia
87H	24 M	Politrau- matismo	Úlcera sacra decúbito	No	Exudado úlcera EGB L (+)	Vaginal Perianal	Antibiótico local	Erradicación	Curación	Negativo	III
88H	56 V	Diabétes	Herida post- traumática	No	Exudado herida EGB <u><i>S. aureus</i></u> L (+)	Hecas	Antibiótico local	Erradicación	Curación	<u><i>S. epidermidis</i></u>	NT
89H	40 V	Diabétes	Herida post- traumática	Amoxicilina	Exudado herida EGB L (+)	No	Antibiótico local	Erradicación	Curación	Negativo	II

TABLA XIV - INFECCIONES EN PACIENTES CON PATOLOGÍA VASCULAR PERIFÉRICA (Continuación)

CASO H/A	SEXO	ANTECEDENTES	CLÍNICA	TRATAMIENTO PREVIO	MUESTRA FUNDAMENTAL*	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCIÓN INFECCIÓN EGB (29cultivo)	EVOLUCIÓN CLÍNICA**	EVOLUCIÓN BACTERIOLOGICA (29cultivo)	SEROTIPO
90H	68 M	Diabétes	Úlcera plantar	Ampicilina+ Gentamicina	Exudado úlcera EGB+S.viridans +B.fragilis + <u>Peptostreptococcus spp.</u> L (+)	No	Cirugía+ Ampicilina+ Gentamicina	Erradicación	=	<u>S.aureus</u>	II
91H	57 V	Diabétes	Úlcera decúbito	No	Exudado úlcera EGB+S.aureus L (+)	No	Cloxacilina	Erradicación	Curación	Negativo	III
92H	68 V	Diabétes	Úlcera isquémica	No	Exudado úlcera EGB L (+)	No	Cirugía	Erradicación	Curación	Negativo	III

* L (+) Presencia de leucocitos

** = Situación clínica sin cambios

4.2.4.- INFECCIONES GENITALES EN VARONES.

Aunque entre los objetivos de este trabajo no se contaba el estudio de EGB en patología genital, por ser conocido su papel patógeno, sobre todo en mujeres colonizadas, nos ha parecido interesante presentar (Tabla XV) un grupo de diez pacientes varones, la mayoría de ellos sintomáticos, de los que se aisló EGB en muestras de exudado uretral, secreción prostática o semen por la importancia que puede tener su valoración como agente causal de enfermedades de transmisión sexual.

Cuatro pacientes presentaron una uretritis tras contacto sexual esporádico, dos de ellos con abundante secreción, los otros dos que habían sido previamente tratados, presentaban escasa secreción y referían sintomatología inespecífica. En todos los casos se investigaron otros patógenos relacionados con ETS incluyendo *Chlamydia*, *Mycoplasma* y *Ureaplasma* que resultaron negativos.

En dos pacientes, uno de ellos diabético, EGB se aisló del exudado balano prepucial, en los dos junto a *C. albicans*. En un varón de 51 años con un diagnóstico de prostatitis, EGB se aisló en muestra de orina y secreción prostática obtenidas tras masaje.

En todos los casos EGB se aisló además del frotis perianal.

Se incluyen en este grupo, además, tres pacientes asintomáticos a los que se realizaba un estudio de esterili-

lidad y de los que se aisló EGB como único microorganismo en muestra de semen. En dos de ellos, posteriormente se encontró una azoospermia. Aunque, probablemente en estos tres casos EGB se comportara como mero colonizador, ponen de relieve su importancia como agente de transmisión sexual.

TABLA XV - INFECCIONES GENITALES EN VARONES (n = 10)

CASO N/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	MUESTRA FUNDAMENTAL*	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (29 cultivo)	EVOLUCION CLINICA	EVOLUCION BACTERIOLOGICA (29 Cultivo)	SEROTIPO
93A	51 V	No	Prostatitis	No	Orina-secreción prostática EGB L(+)	Perianal Heces	Amoxicilina	Eradicación	Curación	Negativo	III
94A	31 V	No	Estudio esterilidad	No	Semen EGB L(0)	Perianal Heces	No	Persistencia		EGB	III
95A	20 V	No	Uretritis	Amoxicilina	Exudado uretral EGB L(+)	Perianal Heces Orina	Amoxicilina	Eradicación	Curación	Negativo	III
96A	27 V	No	Uretritis	Penicilina	Exudado uretral EGB L(+)	Perianal Heces	Amoxicilina	Eradicación	Curación	Negativo	Ia
97H	52 V	Diabetes Cardiopatía	Balanitis	No	Exudado balano- preucial EGB+C.albicans L(+)	Perianal	Amoxicilina+ Miconazol Tópico	Eradicación	Curación	Negativo	Ia

* L (+) = presencia de leucocitos

TABLA XV - INFECCIONES GENITALES EN VARONES (Continuación)

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	MUESTRA FUNDAMENTAL	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (29 Cultivo)	EVOLUCION CLINICA	EVOLUCION BACTERIOLOGICA (29 Cultivo)	SEROTIPO
98A	24 V	No	Uretritis	No	Exudado uretral EGB L(+)	Perianal	Amoxicilina	Erradicación	Curación	Negativo	III
99A	39 V	No	Estudio esterilidad	No	Semen EGB L(0)	Perianal Heces	No	Persistencia.		EGB	II
100A	29 V	No	Balanitis	No	Exudado bal-no- preputial EGB+C.albicans L(+)	Perianal	Antiséptico local	Erradicación	Curación	<u>C.albicans</u>	III
101A	21 V	No	Uretritis	No	Exudado uretral EGB L(+)	Perianal	Penicilina	Erradicación	Curación	Negativo	Ia
102H	24 V	No	Estudio esterilidad	No	Semen EGB L(0)	Perianal Heces	No	Persistencia		EGB	III

4.2.5. INFECCIONES GRAVES.

Bajo esta denominación hemos agrupado una serie de infecciones producidas por EGB, de diferente localización y que en algunos casos cursaron con bacteriemia, y se presentan en la tabla XVI.

Se trata de seis mujeres, dos de ellas puérperas, y dos varones, la media de edad para los varones fue de 70 años, de 38 años para las mujeres que presentaron infección no relacionada con la gestación y de 21'5 años en las puérperas.

Los casos de infección en relación al periodo gestacional de este grupo, se presentaron como complicación de intervenciones de cesárea. Uno de ellos (caso 110) fue una peritonitis en una mujer de 17 años que obligó a la reintervención quirúrgica, aislandose EGB del exudado de herida y posteriormente del líquido peritoneal junto a *E. faecalis* y *B. fragilis*. En el otro caso (caso 109), la paciente presentó una bacteriemia por EGB a partir de la infección de la herida quirúrgica, de la que también se aisló EGB. En los dos casos se presentó colonización por EGB en vagina y/o periné.

Fuera del periodo gestacional cuatro mujeres presentaron infecciones de diferente localización, que por su gravedad se incluyen en este grupo; en dos de ellas no existía patología subyacente y presentaron un cuadro de peritonitis por perforación de úlcus duodenal y de un

divertículo aislado respectivamente. En el primer caso (caso 108), EGB se aisló del líquido peritoneal obtenido por punción como único microorganismo; en el segundo caso (caso 107), EGB se presentó asociado a flora anaerobia.

Estas dos pacientes fueron tratadas antes de realizarse la toma de muestras y en ninguna de las dos se encontró colonización por EGB.

En otras dos mujeres, se dieron condiciones previas favorecedoras de la infección: cirrosis hepática y síndrome nefrotico por lupus eritematoso sistémico (L.E.S.), la primera es una mujer con un hematoma subcutáneo tras heparinización, que posteriormente se infectó y del pus pudo aislarse EGB, esta paciente falleció por un tromboembolismo pulmonar y no fue posible la recogida de otras muestras.

La segunda paciente con un lupus eritematoso, presentó una bacteriemia por EGB a partir de una celulitis y EGB se aisló también del aspirado subcutáneo, no se aisló EGB en otras localizaciones.

Los dos varones que presentaron infecciones graves por EGB eran portadores de prótesis, uno de ellos diabetico.

A un paciente con una prótesis valvular (caso 104) se le había realizado una sustitución una semana antes, presentó disfunción valvular con infección de la herida mediastínica y bacteriemia por EGB, se trató con ampicilina mas gentamicina y falleció tras la reintervención a que se sometió y no fue posible el cultivo de la prótesis. La cepa aislada de este paciente, resultó tolerante a penicilina.

El último caso es el de un paciente diabético (caso 106) con una osteomielitis de tibia del que se aisló en el exudado de la fistula EGB y *S. aureus*. ambos microorganismos persistieron a pesar del tratamiento médico establecido siendo necesaria la reintervención quirúrgica.

TABLA XVI - INFECCIONES GRAVES (n = 8)

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	MUESTRA FUNDAMENTAL*	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (29Cultivo)	EVOLUCION CLINICA **	EVOLUCION BACTERIOLOGICA (29Cultivo)	SEROTIPO
103H	68 V	Diabetes Prótesis ósea	Osteomielitis	Cloxacilina	Exudado fístula EGB <u>S.aureus</u> L(+)	No	Cloxacilina	Persistencia	=	<u>S.aureus</u> +EGB	Ia
104H	72 V	Prótesis valvular	Endocarditis	Cefazolina	Sangre EGB	Ex. herida mediastínica	Ampicilina+ Gentamicina Cirugía	-	Exitus	-	Ia
105H	58 M	Cirrosis	Absceso subcutáneo	No	Pus absceso EGB L(+)	No	Ampicilina	-	Exitus	-	Ib
106H	19 M	L.E.S.	Celulitis	Cloxacilina	Sangre EGB	Aspirado subcutáneo	Cloxacilina	Erradicación	Curación	Negativo	Ia
107H	20 M	No	Peritonitis	Gentamicina+ Metronidazol	L.peritoneal EGB+E.coli+ <u>S.fragilis.</u> L(+)	Exudado herida quirúrgica	Cirugía+ Metronidazol+ Gentamicina	Persistencia	mejoría	EGB en ex.herida quirúrgica	Ia

TABLA XVI - INFECCIONES GRAVES (Continuación)

CASO H/A	SEXO EDAD	ANTECEDENTES	CLINICA	TRATAMIENTO PREVIO	MUESTRA FUNDAMENTAL*	OTROS CULTIVOS POSITIVOS A EGB	TRATAMIENTO	EVOLUCION INFECCION EGB (29Cultivo)	EVOLUCION CLINICA**	EVOLUCION BACTERIOLOGICA (29Cultivo)	SEROTIPO
108H	58 M	No	Peritonitis	Tobramicina Cefotaxima+ Metronidazol	L.peritoneal EGB L (+)	No	Cirugíat Tobramicina+ Metronidazol	Erradicación	Curación	Negativo	Ia
109H	26 M	Cesárea	S. febril	Amoxicilina+ Gentamicina	Sangre EGB	Ex.herida quirurgica Periana	Amoxicilina+ Gentamicina	Erradicación	Curación	Negativo	Ib
110H	17 M	Cesárea	Peritonitis	Amoxicilina+ Gentamicina	L.peritoneal EGB+E.faecalis+ B.fragilis L (+)	Periana Vaginal	Cirugíat Cefotaxima+ Metronidazol	Erradicación	Curación	Negativo	Ia

* L(+) Presencia de leucocitos

** = Situación clínica sin cambio.

4.3. - CEPAS BACTERIANAS.

4.3.1.- Pruebas bioquímicas:

Siguiendo el esquema clásico para la identificación de *Streptococcus* (68,89), hemos estudiado 200 cepas de EGB de diversa procedencia, a las que se han realizado diez pruebas bioquímicas. Los porcentajes de positividades obtenidos en cada una de las pruebas se muestran en la tabla XVII.

TABLA XVII - Características bioquímicas de 200 cepas de *S. agalactiae*

Características bioquímicas	% reacción positiva
Beta hemólisis	99'5
Producción de pigmento	99'5
Crecimiento en ClNa 6'5%	87'0
Crecimiento con 40% bilis	53'0
Resistencia a SXT	100
Resistencia a Bacitracina	97'0
Hidrólisis de esculina	0
Hidrólisis de hipurato	100
Hidrólisis de arginina	100
Factor CAMP	100

De las 200 cepas estudiadas, sólo una (0'5%), aislada de un exudado vaginal, resultó no hemolítica y no productora de pigmento (medios de Islam y Granada).

Las características que presentaron el 100% de las cepas probadas fueron: Resistencia al SXT, hidrólisis de hipurato de sodio y de arginina y el factor CAMP.

4.3.2. - Sistemas con baterías de pruebas.

4.3.2.1. - API-20 Strep.

Todas las cepas de EGB fueron identificadas, correctamente (probabilidad > del 90%), con el sistema API. En las 21 pruebas bioquímicas que se estudian, se han obtenido los siguientes porcentajes de positividades.

-Voges Proskauer = 100%	-Manosa = 0
-Hipurato = 100%	-Sorbitol = 0
-Esculina = 0	-Lactosa = 12%
-Pirrolidonil arilamidasa = 0	-Trehalosa = 89'5%
-Alfa-Galactosidasa = 10'5%	-Inulina = 0
-Beta-Glucuronidasa = 67'5%	-Rafinosa = 0
-Beta-Galactosidasa = 0	-Almidón = 57'5%
-Fosfatasa alcalina = 100%	-Glucógeno = 0
-Leucina arilamidasa = 100%	-Hemólisis = 99'5%
-Arginina dehidrolasa = 100%	(Codigo aparte)
-Ribosa = 100%	
-Arabinosa = 0	

Estos resultados se corresponden con los siguientes cinco códigos de identificación de la base de datos del API-20 en los que están incluidas todas las cepas probadas.

3063011 = 1 cepa no hemolítica (0'5%)

3063014 = 64 cepas (32%)

3463015 = 90 cepas (45%)

3463415 = 24 cepas (12%) + cepas patrón

3663004 = 21 cepas (10'5%)

Las diferencias encontradas, con respecto al código de presentación más frecuente (3463015) correspondían al segundo dígito octal: Presencia de Beta-Glucuronidasa y Alfa-Galactosidasa; quinto dígito: lactosa, sexto y séptimo dígito: trehalosa y almidón, y no producción de hemólisis (una cepa).

Los tantos por ciento de positividades para cada prueba, coinciden con los de la base de datos del sistema con una diferencia de +/- 10% , salvo en tres de ellas:

- Lactosa - positiva en el 50% de los casos según la base de datos y sólo en el 12% de nuestras cepas.

- Almidón - 35% de positividad y obtenemos el 57'5%

- Beta hemólisis - la presentó el 99'5% de las cepas estudiadas, mientras en la base de datos del sistema se señala sólo el 75% .

4.3.2.2.- SCEPTOR MIC/ID.

El panel Sceptor para Gram positivos permitió la correcta identificación de todas las cepas de EGB, con una probabilidad mayor al 90%. Los porcentajes de positividades obtenidos en cada prueba han sido:

Dextrosa = 100%	PYR = 0
Manosa = 0	Leucina = 4%
Trehalosa = 46%	Bacitracina = 100%
Arabinosa = 0	Lactosa = 7% + cepas patron
Sorbitol = 0	Rafinosa = 0
Esculina = 0	Sacarosa = 96%
Telurito = 0	Celobiosa = 0
Voges Proskauer = 11%	Xilosa = 0
Nitratos = 0	Inulina = 0
Hipurato = 100%	
Fosfatasa = 9%	
Arginina = 100%	

Los códigos de identificación (números octales) obtenidos, fueron:

4005150 = 14 cepas (7%) + cepas patrón
4005110 = 86 cepas (43%)
4005300 = 8 cepas (4%)
4025110 = 22 cepas (11%)
5005110 = 52 cepas (26%)
5007110 = 18 cepas (9%)

Con respecto al código de presentación mas frecuente (5005110) las distintas variantes se deben a cinco reac-

ciones: Trehalosa, Voges Proskauer, Fosfatasa alcalina, Leucina y Lactosa.

Los tantos por ciento de positividades obtenidas en cada prueba, coinciden (+/- 10%) con los que figuran en la base de datos del sistema, excepto para tres de ellas:

- Fosfatasa - La base indica reacción positiva para el 97% de las cepas, la presentó sólo el 9%
- Leucina - Sólo 4% de las cepas fueron positivas, aunque la probabilidad indicada (en la base de datos) es del 62%
- Lactosa - Presentaron reacción positiva el 7% de las cepas, mientras se señala el 35% en la base del sistema.

4.3.2.3. - VITEK (GPI)

De las 200 cepas estudiadas, sólo, 38 (19%) se identificaron correctamente con una probabilidad mayor o igual al 89%. Otras 44 (22%) y las cepas patrón, fueron identificadas como *Streptococcus anginosus* y 25 (12.5%) como *S. equi* (Grupo C). La cepa no hemolítica, fue identificada como *S. constellatus* (*Strep. viridans*). Las restantes (46%), no fueron identificadas por el sistema al no corresponderse los códigos de identificación hallados con los de la base interna de datos.

Las cepas identificadas correctamente, dieron los siguientes porcentajes de positividades:

Bacitracina = 100%	Optoquina = 100%
ClNa 6% = 13%	Bilis 10% = 92'1%
Bilis 40% = 71%	Arginina = 52'6%
Tetrazolio = 92%	Novobiocina = 92%
Glucosa = 100%	Sacarosa = 92'1%
Trehalosa = 52'6%	Pullulan = 71%
Ribosa = 13%	
Beta hemolisis (codigo aparte) = 99'5%	

Las demas pruebas resultaron negativas, en el 100% de las cepas estudiadas.

Los bionumeros correspondientes a las cepas identificadas fueron:

70004000004 = 3 cepas	73534042004 = 5 cepas
71434042004 = 7 cepas	71534062004 = 15 cepas
71004060004 = 5 cepas	

Los tantos por ciento de positividades de cada prueba coincidieron en +/- 10% con los señalados en la base de datos del Vitak, excepto para Ribosa que la base señala 95% de reacciones positivas y se obtuvo sólo en el 13%.

Los bionumeros correspondientes a las cepas identificadas como *S. anginosus* fueron mayoritariamente: 71034260004 (17 cepas) y 70134262004 (21 cepas), en los dos casos una reacción positiva para salicina, que en la base de datos tiene asignado valor 0, fue el único resultado que difería de los obtenidos con las cepas identificadas como EGB.

Las cepas identificadas como *S. equi*, presentaron, en su mayoría dos códigos diferentes 71034242004 (11 cepas) y 70124242004 (9 cepas) igual que en el caso anterior, los resultados de todas las pruebas excepto salicina coincidieron con los de las cepas que se identificaron correctamente.

S. constellatus (71134262040) fue la identificación dada para una cepa no hemolítica de EGB. La ausencia de hemólisis y reacción positiva para salicina son las pruebas que marcan la diferencia con los códigos de identificación de EGB.

Aunque el perfil bioquímico de las cepas no identificadas resultó variable, los bionumeros de presentación más frecuente y que se repitieron en diez o más cepas fueron cinco diferentes:

73124062004, 73134262044, 73434240044, 73434242004,
73534262004.

Excepto para el primero en que cualquiera de las reacciones son válidas para EGB, según la base de datos, los demás presentan como única prueba anómala una reacción positiva para salicina, que excluye la identificación como *S. agalactiae* en el sistema.

4 3.3.- SEROTIPOS.

Se presentan en la tabla XVIII.

Se ha realizado el serotipado de 200 cepas de EGB, (111 procedentes de enfermos y 89 de portadores) por reacción de precipitación capilar (sección 3.2.5). El serotipo más frecuente en nuestra serie fue el Ia (49%) tanto en cepas procedentes de enfermos (45'9%) como de portadores (52'8%).

El serotipo III, resultó el segundo en frecuencia (32%): 28% de las cepas de portadores y 35'1% de los aislamientos clínicos.

Veinte cepas (10%) eran del serotipo II y representaron el 9'9% y 10'1% de las cepas de enfermos y portadores, respectivamente.

El 3% de las cepas fueron del serotipo Ib, dos se aislaron de portadores (2'2%) y cuatro de pacientes (3'6%).

El serotipo Ic, representó el 1% , 0'9% y 1'1% en cada caso. El 5% de las cepas fueron no tipables.

TABLA XVIII. FRECUENCIA DE SEROTIPOS AISLADOS DE ENFERMOS Y PORTADORES.

Procedencia de la cepa	Serotipo					
	Ia	Ib	Ic	II	III	NT*
Portadores (n=89)	47	2	1	9	25	5
Inf. urinarias (n=34)	17	2	1	2	11	1
Inf. urinarias (n=26) en gestantes**	11	0	0	3	9	3
Inf. de heridas (n=20)	9	0	0	3	8	0
Inf. úlceras (n=13)	5	0	0	2	5	1
Inf. genitales (n=10)	3	0	0	1	6	0
Inf. graves (n=8)	6	2	0	0	0	0
Total (n = 200)	98	6	2	20	64	10

$$\chi^2 = 31.6 \quad p > 0.05$$

* NT = No tipable.

** En una paciente se aislaron dos cepas de diferente serotipo, por lo que se cuentan 26 cepas y 25 casos de infección urinaria en gestantes.

4.4.- SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIOTICOS.

4.4.1 - C.M.I.

El rango, moda, valores de CMI 50% y 90% y CMB de los doce antibióticos probados frente a 200 cepas de EGB se detallan en la tabla XIX. y se muestran en las figuras 1 a 4.

TABLA XIX - CMI de diferentes antibióticos frente a EGB

Antibiótico	CMI (ugr/ml.)				CMB* (ugr/ml.)		
	rango	moda	50%	90%	rango	moda	90%
Penicilina	.005-.04	.01	.01	.01	.01-2.4	.04	.04
Ampicilina	.005-.04	.02	.01	.02	.02-2.4	.08	.08
Amoxicilina	.005-.04	.02	.01	.02	----		
Ceftriaxona	.01-.04	.02	.02	.02	----		
Cefotaxima	.005-.02	.02	.02	.02	.02-.08	.08	.08
Eritromicina	.01-.02	.01	.01	.02	----		
Vancomicina	.16-.64	.64	.64	.64	----		
Teicoplanina	.04-.16	.08	.08	.08	----		
Ciprofloxa- cina	.32-2.4	1.2	1.2	1.2	----		
Oxfloxacina	.64-2.4	2.4	2.4	2.4	----		
Norfloxacina	2.4-10	10	4.8	10	----		
Fleroxacina	1.2-10	4.8	4.8	4.8	----		

* Únicamente se realizó CMB y estudio de tolerancia a Penicilina, Ampicilina y Cefotaxima.

C.M.I. - CEFALOSPORINAS CEFOTAXIMA
 ★ CEFTRIAXONA

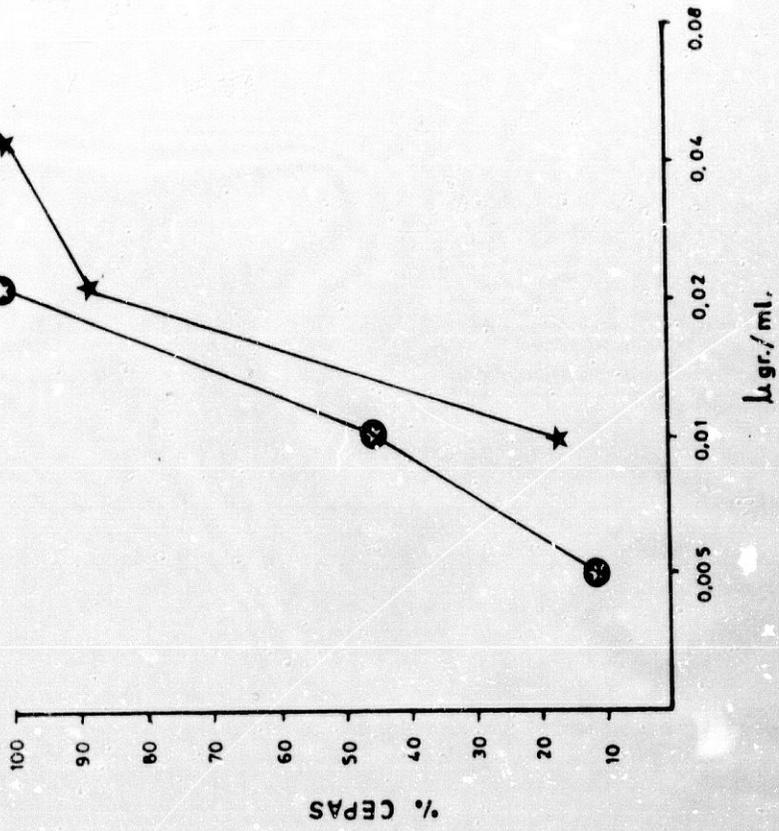


Fig. 2

C.M.I. - PENICILINAS PENICILINA G
 ★ AMPICILINA
 ☆ AMOXICILINA

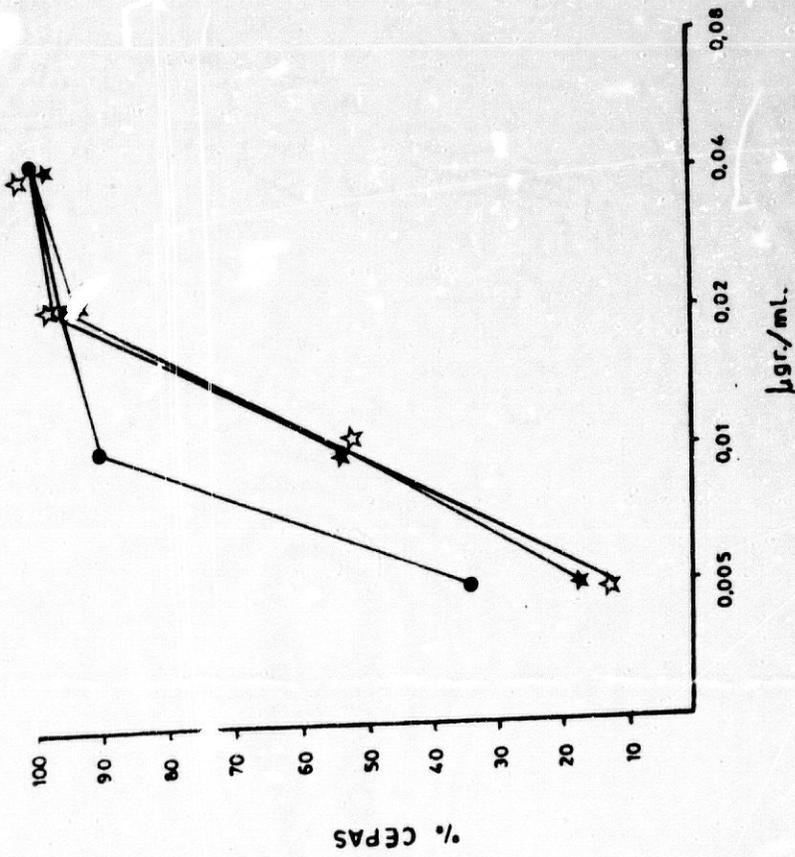
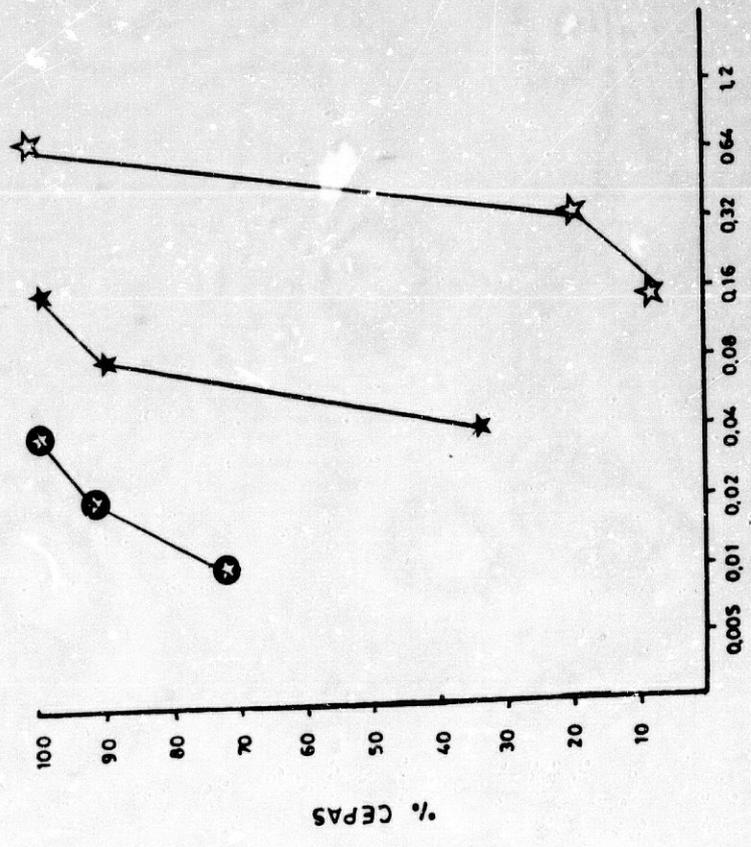


Fig. 1

C.M.I. -

- ERITROMICINA
- ☆ VANCOMICINA
- ★ TEICoplanina

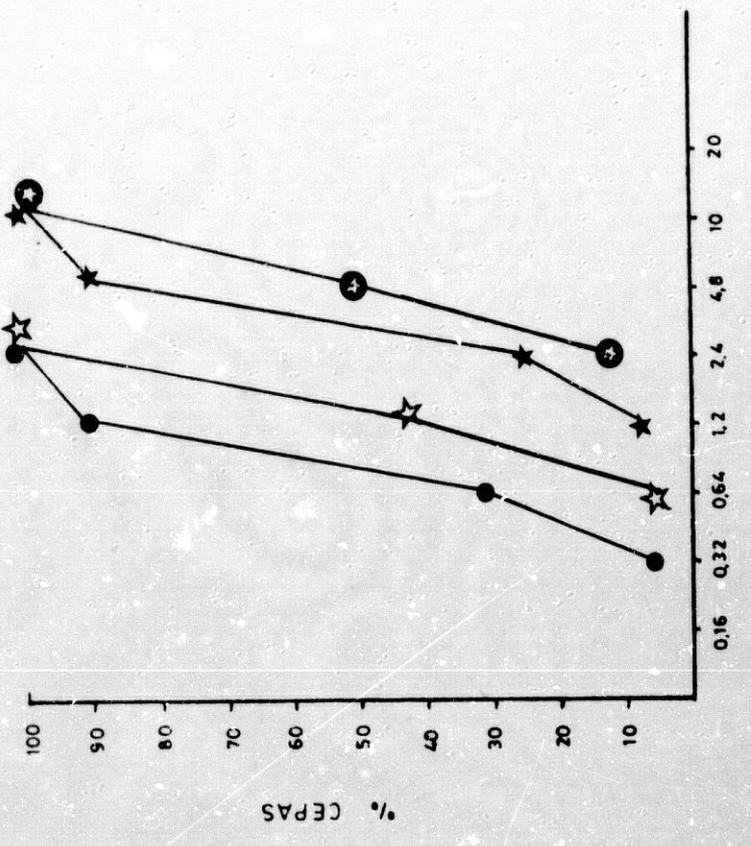


μgr./ml.

Fig. 3

C.M.I. - QUINOLONAS

- CIPROFLOXACINA
- ☆ OFLOXACINA
- NORFLOXACINA
- ★ FLEOROXACINA



μgr./ml.

Fig. 4

Amoxicilina y Ampicilina, aunque mostraron actividad similar, presentaron una CMI90 mayor que la de Penicilina. Eritromicina resultó tan activa como estos antibióticos con una CMI90 igual a la de ellos.

Las dos cefalosporinas se mostraron activas frente a EGB con CMI90 igual a la de Amoxicilina y Ampicilina.

Teicoplanina resultó mas activa que Vancomicina con CMI90 de 0'08 ugr/ml y 0'64 ugr/ml respectivamente.

De las cuatro quinolonas estudiadas, Ciprofloxacina fue la mas activa de todas con CMI90 de 1'2 ugr/ml, un poco menos activas resultaron Ofloxacina y Fleroxacina, y la de menor actividad fue Norfloxacina con CMI90 de 10 ugr/ml.

Las distintas cepas se mostraron muy homogeneas en sus CMI, oscilando la de cada antibiótico para las diferentes cepas entre una y tres diluciones.

Las CMI determinadas en caldo fueron las mismas que las obtenidas en agar, y las CMB de los tres antibioticos probados estuvieron de una a dos diluciones por encima de la CMI obtenida, salvo tres cepas (tolerantes) que presentaron CMB a Penicilina y Ampicilina muy superiores a sus CMI (más de cuatro diluciones).

4.4.2 - C.M.B. TOLERANCIA.

Se ha estudiado tolerancia a Penicilina, Ampicilina y Cefotaxima, en las 111 cepas de EGB procedentes de muestras clinicas (no exudados vaginales ni muestras de RN). En la tabla XX. se exponen los resultados obtenidos.

Tres cepas (2'7%) resultaron tolerantes a Penicilina y Ampicilina. La CMI a Penicilina fue de 0'005 ugr/ml para las tres cepas. La CMI a Ampicilina fue de 0'005 ugr/ml para una cepa y 0'02 ugr/ml para las otras dos. En los tres casos, y para los dos antibioticos la CMB fue de 2'4 ugr/ml. (tabla XIX)

Ninguna de las cepas presentó tolerancia a Cefotaxima.

Una cepa (serotipo III) procedia de una muestra de semen de un paciente asintomático (caso 94 tabla XV), otra (serotipo III) del exudado uretral de un paciente con uretritis (caso 98 tabla XV) y la tercera (serotipo Ia) se aisló de sangre en un paciente con endocarditis (caso 104 tabla XVI).

TABLA XX - TOLERANCIA A BETA LACTAMICOS: CMB-CMI.

Antibiótico	CMI90%	CMB90%	CMI/CMB*			Cepas tolerantes	
			rango	moda	90%	n	(%)
Penicilina	.01	.04	1-1024	4	4	3	(2'7)
Ampicilina	.02	.08	1-1024	4	4	3	(2'7)
Cefotaxima	.02	.08	1-8	4	4	0	

* ugr./ml.

4.5 - ADHESIVIDAD A CELULAS EPITELIALES.

La capacidad de las 200 cepas de EGB para adherirse a células epiteliales (HeLa y Hep-2) se ha valorado según una escala ordinal de 0 - 4 (sección 3.4) y se muestra en las tabla XXI y XXII, en relación al origen del aislamiento y el serotipo.

De las 200 cepas estudiadas, el 19'5% mostró gran adherencia, con valor 4 de la escala con un valor de 3 se calificó al 31% de las cepas, el 24'5% tenía una adherencia de 2, en el 18% de los casos la adherencia fue igual a 1 y el 7% no se adhería a las células epiteliales.

No se encontraron diferencias en la adherencia a las dos líneas celulares. Los valores para cada una de las cepas coincidieron en todos los casos, en las dos líneas que se utilizaron en paralelo.

TABLA XXI - Adherencia a células epiteliales (HeLa y Hep-2) de 200 cepas de EGB aisladas de portadores (n=89) y enfermos (n=111)

EGB	Adherencia					p*	
	Origen	0	1	2	3		4
Portadores (n=89)		14	25	21	16	13	
Inf. urinarias (n=34)		0	2	11	14	7	<0.05
Inf. urinarias en gestantes (n=26)		0	2	4	13	7	<0.05
Inf. heridas (n=20)		0	3	3	8	6	<0.05
Inf. úlceras (n=13)		0	4	4	4	1	>0.05
Inf. genitales (n=10)		0	0	4	4	2	>0.05
Inf. graves (n=8)		0	0	2	3	3	<0.05
Total n = 200		14	36	49	62	39	

H (Kruskal-Wallis) = 14'5 (p < 0.05)

F (ANOVA rangos) = 6'08 (p < 0.05)

* Comparacion con el grupo de portadores (Test de Dunnet).

TABLA XXII - ADHERENCIA DE LOS DISTINTOS SEROTIPOS DE EGB A CELULAS EPITELIALES (HeLa y HEP-2).

EGB	Adherencia				
	0	1	2	3	4
Serotipo					
Ia (n = 98)	9	17	22	33	17
Ib (n = 6)	0	1	2	1	2
Ic (n = 2)	0	0	0	2	0
II (n = 20)	1	5	5	4	5
III (n = 64)	3	11	17	20	13
* NT (n = 10)	1	2	3	2	2
** Total n = 200	14	36	49	62	39

H (Kruskal-Wallis) = 0.13 (p > 0.05)

F (ANOVA rangos) = 0.27 (p > 0.05)

* NT = No tipable

** En una paciente se aislaron dos serotipos diferentes de EGB, por lo que en total se cuentan 111 cepas procedentes de enfermos.

DISCUSSION

5.1 - ESTUDIO DE PORTADORES.

No se han encontrado diferencias entre las tasas de colonización obtenidas en los diferentes grupos de población adulta estudiados, por lo que podría afirmarse que circunstancias individuales como la edad, gravidez o existencia de patología subyacente no son determinantes del estado de portador de EGB. Sin embargo, en pacientes que habían recibido antibióticos, no fue posible el aislamiento de EGB. Aunque, los antibióticos no han demostrado eficacia para eliminar el estado de portador (83), su empleo altera la tasa de colonización en estudios epidemiológicos, bien por suprimir de forma temporal la colonización o por dificultar su aislamiento.

En nuestro estudio el tracto gastrointestinal representó, análogamente a lo señalado por otros autores (4,53,152), el lugar principal de portación de EGB, suponiéndose que la colonización genital se produce por contigüidad desde el área perineal contaminada a partir del tracto intestinal. Aunque el aislamiento de EGB de heces, generalmente, se asoció con cultivos positivos en otras áreas anatómicas en el 3'5% de los casos se presentó como única localización.

El estudio de varias muestras y el empleo de medio selectivo de enriquecimiento favorecen el aislamiento de EGB de portadores. Aunque, en nuestro caso, las diferencias en las tasas obtenidas con y sin el empleo de caldo enriquecido no fueron tan llamativas como en otros estudios

(15,62), probablemente debido a que empleamos para siembra directa de las muestras medio de Islam selectivo, que facilita la identificación y aislamiento de EGB sobre todo cuando se trata de muestras que contienen abundante flora.

En otras series que han empleado medios sólidos, se obtienen tasas de colonización mas bajas que con el empleo de caldo, aún no siendo este selectivo, sobre todo en cultivos que contienen un bajo número de bacterias (15).

El empleo de medios sólidos diferenciales, con agentes selectivos (como el metronidazol en el Islam (10 ug. l) o el SXT en el Granada) puede ser buena alternativa al empleo de caldos enriquecidos, que a veces pueden resultar inhibitorios para EGB (86), facilitando la rápida identificación de EGB cuando se realiza screening de gran número de muestras.

En este estudio, la toma de muestras en diferentes localizaciones en un mismo paciente, se ha mostrado más eficaz para la detección de portadores que el empleo de caldos enriquecidos.

En varones, donde encontramos la tasa de colonización mas baja, se obtuvo muestra de heces sin tomar muestra de exudado perianal y es posible que esto justifique la menor tasa de colonización encontrada.

La tasa de colonización en RN no varió se emplearan o no medios selectivos. Los cinco casos encontrados presentaban colonización en dos o más de las superficies muestreadas, lo que indica un fuerte inóculo, que permite el aislamiento directo. Como en otras series, nuestros re-

sultados indican una tasa de colonización en RN del orden del 55% de la tasa de colonización vaginal en gestantes (62).

Los resultados obtenidos indican que si bien el empleo de caldo selectivo facilita la detección de EGB en portadores el uso de un medio sólido adecuado, puede representar una alternativa válida en despistajes en RN o en embarazadas a término; pues, la infección neonatal se asocia generalmente con altos títulos fácilmente reconocibles en estos medios, que permiten además un diagnóstico más rápido.

5.2 - ESTUDIO CLINICO.

Las infecciones por EGB de cualquier localización, que se han presentado durante este estudio, se han distribuido en tres grupos bien definidos:

Un grupo de mujeres jóvenes ($n = 25$, edad media = 27 años) en que la infección por EGB representó una complicación del embarazo, parto o postparto (infecciones relacionadas con la gestación) y que suponen el 30% de los casos.

Otro grupo son adultos de mediana edad ($n = 67$, media = 51'6 años), en general con condiciones previas favorecedoras de la infección y son el 61% de los pacientes de esta serie.

El tercer grupo son varones jóvenes ($n = 10$, media de edad = 31'8 años) algunos asintomáticos, en los que EGB

se aisló del tracto genital y representan el 9% de los casos.

Es importante señalar, que no hubo ningún caso pediátrico fuera del periodo neonatal, en esta serie.

Aparte de las infecciones relacionadas con la gestación (33 casos), la infección por EGB se presentó con frecuencia análoga en mujeres (43 casos) y en varones (34 casos). Aunque en algunos estudios, se ha considerado a la población femenina más susceptible a la infección por la importancia del tracto genital como reservorio de EGB (67.4), nuestros resultados sugieren que los varones son igualmente susceptibles.

La infección urinaria fue la más frecuente (53.1%), tanto en relación con la gestación (25 casos) como en mujeres fuera de este periodo (30 casos). En varones la infección urinaria se presentó sólo en cuatro casos.

Aunque la evaluación del significado real de la presencia de EGB en orina es difícil, por la posibilidad de que su aislamiento represente contaminación de la muestra y no verdadera infección, se ha establecido que recuentos iguales o mayores a 10^5 UFC/ml. son indicadores de verdadera bacteriuria (146). Ocasionalmente, pueden ser significativos recuentos inferiores como ocurre con otros patógenos, sobre todo en pacientes con anormalidades del tracto urinario.

En nuestra serie, recuentos de más de 10^4 UFC/ml. fuera del periodo gestacional, se asociaron siempre con

sintomatología clínica y buena respuesta al tratamiento.

Casi todas las mujeres con EGB en orina y todos los varones presentaban colonización en otras localizaciones por EGB. Aunque, en algunos casos, la presencia de EGB en orina pueda representar una contaminación a partir de la flora genital sobre todo cuando no se acompaña de sintomatología o leucocituria, es preciso valorarla sobre todo en gestantés, por la posible repercusión sobre el embarazo de una verdadera bacteriuria asintomática por EGB, que sólo puede diagnosticarse inequívocamente tras el cultivo de orina obtenida por punción suprapúbica.

En nuestra serie sólo fue posible realizar punción suprapúbica a tres pacientes, que habían presentado dos urocultivos previos positivos a EGB (dos de ellas con recuentos inferiores a 10^5 UFC/ml.) y en las tres EGB se aisló de la orina vesical.

Aunque no se realice punción suprapúbica a todas las gestantes asintomáticas con EGB en muestras repetidas de orina y sin leucocituria (lo que sería el único medio de descartar bacteriuria asintomática verdadera) el aislamiento de más de 10^4 UFL/ml. indicaría un fuerte inóculo vaginal que es uno de los factores de riesgo de la enfermedad neonatal por EGB.

En estos casos, el resultado del urocultivo puede utilizarse como índice para valorar el riesgo de colonización neonatal e indicar pautas de tratamiento o profilaxis.

La infección urinaria fuera del periodo gestacional (34 casos) se presentó sobre todo en mujeres de mediana

edad (30 mujeres y 4 varones) con enfermedades subyacentes o factores predisponentes. Las patologías de base más frecuentes en nuestros pacientes, como en otras series (32,121), fueron anomalías de vías urinarias y diabetes mellitus.

Todos los pacientes en los que se aisló EGB de orina, fuera del periodo gestacional, eran sintomáticos y la mayoría presentaban leucocituria y/o hematuria. Hubo algunos casos sin leucocituria, aunque sí con recuento significativo de colonias en orina y clínicamente respondieron al tratamiento.

La distinta distribución por sexos, de la ITU por EGB, probablemente refleja la persistencia de colonización genital por EGB en mujeres más allá del periodo fértil y su paso a través de uretra a vejiga.

Aunque no hemos empleado medios específicos para el aislamiento de EGB en orina, estos resultados plantean la necesidad de su uso sobre todo, si se realizan programas de screening de bacteriuria en el embarazo. El empleo de medios, como el de MacConkey, que no permiten el crecimiento de EGB impide conocer la incidencia real de bacteriurias por este microorganismo. Así, en la serie de Williams, uno de los mayores estudios de bacteriurias en el embarazo y en el que se realiza la siembra de orina en MacConkey, no se incluye a EGB entre los microorganismos aislados en urocultivos de 460 gestantes con bacteriuria (181).

En agar CLED, que fue el medio empleado en nuestro estudio, EGB crece tras 24h. formando colonias puntiformes transparentes y la aparición de colonias con esta morfología obliga al subcultivo en medios adecuados.

Las infecciones de heridas quirúrgicas se presentaron con frecuencia similar en hombres (11 casos) y mujeres (9 casos) de estas, la mayoría fueron gestantes que presentaron infecciones de heridas de cesárea.

Aunque en algunas series los aislamientos de EGB de piel y tejidos blandos se consideran en la mayoría de los casos colonización (58), en otras se describen infecciones graves y bacteriemias a partir de este origen por lo que se hace precisa su valoración en cada caso. Sobre todo, si se tiene en cuenta que la mayoría son infecciones que se presentan en pacientes seriamente comprometidos por otras causas. De los veinte pacientes que en este estudio presentaron infecciones de heridas y excluyendo las relacionadas con la gestación, todos excepto una mujer, habían sufrido intervenciones por neoplasias, cirugía vascular o eran diabéticos. Todos ellos fueron tratados con antibióticos o antisépticos locales y no hubo ningún caso de bacteriemia entre estos pacientes, lo que sugiere la importancia del tratamiento en estos casos o al menos, la necesidad de considerar a EGB de la misma forma que se hace con otros patógenos oportunistas.

Todas las infecciones relacionadas con patología vascular periférica (ningún caso se dio en el grupo de gestantes), se presentaron en pacientes diabéticos, con igual frecuencia en hombres (7 casos) que en mujeres (6 casos) y con la media de edad mas alta de todos los grupos estudiados (54 años). Estos pacientes parecen predispuestos a la colonización por EGB de sus úlceras isquémicas y aunque la infección por este microorganismo es frecuente en ellos, en este grupo de pacientes fue en el que se encontró una menor tasa de colonización (3 pacientes, 23%) quizá en relación con el empleo previo de antibióticos.

En ningún caso la infección localizada por EGB evolucionó a infección sistémica y casi siempre (9 casos) se precisó de la cirugía para el tratamiento de la infección.

Infecciones severas por EGB, aunque poco frecuentes, se han presentado en mujeres de todos los grupos de edad algunas relacionadas con la gestación y otras en pacientes tambien jovenes no relacionadas con este estado.

En varones fueron menos frecuentes (2 casos), la media de edad fue mas alta que para las mujeres (70 años/38'7 años) y las infecciones presentaron mayor gravedad, uno de ellos fue el único paciente que falleció por causas directamente relacionadas con la infección y en el otro persistió la infección a pesar del tratamiento médico.

La mortalidad asociada con la infección por EGB resultó en nuestra serie menor que las que se presentan en la literatura (29,82,172), lo que puede deberse a nuestra baja

incidencia de endocarditis (sólo un caso) y la ausencia de infecciones respiratorias y meningitis en esta serie, que son las que se asocian con mayor mortalidad. De interés es que de los dos pacientes que fallecieron uno sufría una endocarditis y la muerte se produjo a pesar de haberse establecido un tratamiento en principio correcto, con ampicilina y gentamicina, aunque posteriormente pudo demostrarse que la cepa aislada era tolerante a Penicilina.

Aunque la transmisión sexual de EGB es conocida (4,153), su importancia como agente causal de ETS esta por establecer. En esta serie se presentan cuatro pacientes varones con un cuadro clínico de uretritis tras contacto sexual, con presencia de leucocitos en el exudado uretral y buena respuesta al tratamiento y en los que fueron excluidos otros patógenos relacionados (incluyendo Chlamydias y Mycoplasma), lo que favorece la hipótesis formulada por algunos autores de considerar a EGB entre los responsables de infecciones de transmisión sexual (153,176).

En relación con esta patología se encuentran además, tres pacientes de los que se aisló EGB en muestra de semen, los tres eran estudiados por un cuadro de esterilidad y se encontraban asintomáticos y aunque el significado de estos aislamientos es dudoso, es interesante su conocimiento y quizá su búsqueda cuando se realizan estudios de este tipo, para conocer mejor la patología genital relacionada con este microorganismo y su posible relación con la infertilidad.

5.3 - CEPAS BACTERIANAS

Todas las cepas estudiadas han mostrado características morfológicas, culturales y bioquímicas típicas de EGB (68,89) y aunque, como para los demás estreptococos la identificación final depende de la demostración del antígeno específico de grupo, la especie puede definirse fisiológica y bioquímicamente.

Las pruebas bioquímicas de los esquemas de identificación clásicos resultaron las más homogéneas. De las pruebas realizadas cuatro: Hidrólisis del hipurato, arginina, resistencia a SXT y factor CAMP resultaron positivas en el 100% de las cepas. Sólo se encontró una cepa no hemolítica y no productora de pigmento, aunque en la mayoría de las series se recoge sobre el 3% (91).

Una prueba negativa, la hidrólisis de esculina lo fue para la totalidad de las cepas.

Otras tres pruebas: Crecimiento en ClNa 6'5% y bilis 40% y resistencia a Bacitracina fueron variables.

Los porcentajes de positividades obtenidos con cada una de las pruebas coincidieron con los de las tablas de identificación de los esquemas que se siguieron (68,89).

La correcta identificación de EGB es posible, en la mayoría de los casos con sólo tres de las pruebas enumeradas, que permiten a la vez su diferenciación de *E. faecalis* que presenta morfología colonial y celular parecida y de *S. pyogenes*. En general un medio de agar sangre carnero con discos de Bacitracina y SXT, un medio con almidón (en

anaerobiosis) para observar la pigmentación y la prueba del hipurato o del factor CAMP son suficientes para la identificación, pues aunque algunas cepas de *E. faecalis* hidrolizan el hipurato no producen factor CAMP ni pigmento en anaerobiosis.

La producción de pigmento en anaerobiosis en medios conteniendo almidón es característica de EGB y se ha usado para el diagnóstico directo de colonización por EGB en el momento del parto, empleando medios semisólidos incubados en aerobiosis en los que en pocas horas se produce pigmento, permitiendo la identificación (151,177).

La identificación serológica de grupo se realizó en todos los casos, pero sólo se empleó como prueba de confirmación tras la identificación, sin evaluar la frecuencia de reacciones cruzadas con otros grupos.

La identificación de EGB con sistemas comerciales con baterías de pruebas y automatizados dio resultados poco reproducibles en muchas de las pruebas. Aún así, la identificación fue correcta en todas las cepas con dos de estos sistemas: API-20 Strep y Sceptor MIC/ID, aunque los porcentajes de positividades obtenidos para la misma prueba en los dos sistemas, sólo coincidieron en nueve de ellas: Hipurato, arginina, PYR, esculina, arabinosa, rafinosa, inulina, sorbitol y manosa; las dos primeras resultaron positivas en todos los casos y negativas las demás.

Las pruebas cuyos resultados fueron superponibles, exceptuando los azúcares, son las recogidas en el esquema

clásico de identificación en las que se obtuvo también 100% de positividades y son las que realmente caracterizan a EGB y proporcionan la clave de la identificación.

En los dos sistemas (API y Sceptor) los dígitos correspondientes a estas pruebas son los que definen los códigos que permiten la identificación.

En otras pruebas comunes como la de Voges Proskauer, fosfatasa alcalina y leucina los porcentajes de positividades variaron del 100% del API al 11% ,9% y 4% respectivamente en el Sceptor. Otra prueba común, lactosa fue también variable según el sistema, aunque con menor diferencia que las anteriores 7% y 12% .

Pruebas como la de Voges Proskauer, fermentación de azúcares y presencia de ciertas enzimas, aunque incluidas en algunas de las tablas de identificación que se han seguido (68,89), no parecen necesarias para la identificación de EGB a la que se llega, incluso en estos sistemas con las pruebas habituales sin que influya de forma decisiva el resultado obtenido en las demás.

Independientemente de la identificación final, el sistema API dió porcentajes de positividades en las distintas pruebas concordantes con los de las tablas de identificación, mientras que el Sceptor en pruebas como la de Voges Proskauer y fosfatasa alcalina dió porcentajes de positividades muy inferiores.

La diferencia en los resultados de las pruebas individuales de cada sistema, puede estar en relación con los diversos sustratos empleados, pues en algunas pruebas co-

munes se señalan porcentajes de positividad en las bases de datos respectivas tan diferentes como los obtenidos.

Estas diferencias no permiten el empleo de las pruebas individuales en ningún sistema para definir características bioquímicas y sólo puede valorarse el resultado global del conjunto de pruebas de la batería, siguiendo la base de datos de cada sistema.

La identificación con el sistema Vitek, se realiza de forma automática al estar integrada la tabla de clasificación en el software y la mayoría de las pruebas bioquímicas que incluye son diferentes a las de los otros dos sistemas empleados. De las reacciones clásicas sólo se encuentran arginina y esculina, crecimiento en 6'5% ClNa y bilis 40% y resistencia a bacitracina y de estas sólo las dos primeras son características de EGB.

Las restantes pruebas del Vitek estudian 17 carbohidratos, reducción del tetrazolio a formazan, hidrólisis de urea y resistencia a optoquina y novobiocina. Todas ellas, salvo algunos azúcares y la optoquina, son poco usadas en la identificación de EGB y generalmente no incluidas en los esquemas para identificación de *Streptococcus*. Esto junto al comportamiento variable de EGB frente a la mayoría de los azúcares y la ausencia de pruebas características de EGB, como la hidrólisis del hipurato, pueden ser la causa de la baja proporción de cepas correctamente identificadas por el sistema Vitek, errores la mayoría de las veces debidos a los resultados de las pruebas de algunos carbohidratos y la salicina.

Estos resultados indican que los sistemas que incorporan las pruebas del hipurato, arginina y esculina, permiten en la mayoría de los casos la correcta identificación de EGB, y su empleo puede resultar mas cómodo que el realizar de forma individual cada prueba. Otros sistemas que no incorporan estas pruebas e incluyen otras en las que existe gran variabilidad de reacciones, en muchas ocasiones no permiten la identificación correcta de EGB.

En general, estos sistemas no son de gran utilidad en la identificación de EGB, que puede realizarse facil, económica y seguramente con las pruebas clásicas y la detección de pigmento.

5.4 - SEROTIPOS.

En el estudio de serotipia encontramos predominio de los serotipos Ia y III, sin diferencia significativa entre los aislados de enfermos y portadores, tampoco se ha encontrado relación entre los serotipos aislados de enfermos y el origen del aislamiento.

El predominio de serotipos es variable, según la localización geográfica. La mayoría de las series recogen unicamente cepas aisladas de RN con infección donde el serotipo mas frecuentemente encontrado es el III (126).

El serotipo Ia, el mas frecuente en nuestra serie, lo

es también en países como Holanda y Noruega sin embargo, en otros estudios realizados en España incluyendo cepas aisladas de enfermos y de portadores se encuentra con mayor frecuencia el serotipo III, seguido del Ia (151), quizás debido al estudio de mayor número de cepas procedentes de RN (72).

En nuestro estudio, las cepas aisladas de RN fueron del serotipo Ia en dos casos y del III en tres de ellos, pero en ninguno de los casos de esta serie se presentó patología asociada a EGB. Esta frecuencia es análoga a la encontrada en cepas procedentes de portadoras vaginales.

El serotipo Ic, que se ha encontrado en algunas series prevalente en muestras procedentes del tracto urogenital (102), fue el menos frecuente en la nuestra aislandose en dos casos: una enferma con una infección urinaria y una portadora asintomática.

La distribución de serotipos encontrada entre cepas de portadores y enfermos no ha mostrado diferencias significativas, por lo que no es posible en adultos, considerar el serotipo como factor asociado a la virulencia y son probablemente, otras características de la cepa y factores del huésped los que motivan el cambio de estado de portador a enfermo.

5.5 - SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIOTICOS: C.M.I. y C.M.B.

Penicilina G fue el antibiótico que presentó una CMI90 menor, 0'01 ugr/ml. Amoxicilina y Ampicilina, las dos cefalosporinas y Eritromicina mostraron una actividad similar con CMI90 de 0'02 ugr/ml. Estos resultados coinciden con los de otros autores (100,150) y no se observa, en nuestro medio, un aumento de resistencia a Penicilina G.

Tolerancia a Penicilina, descrita en otras series en el 4%-6% de las cepas de EGB (110), se encontró en tres cepas (2'7%) de las estudiadas, con CMB mil veces superior a la CMI obtenida para Penicilina y Ampicilina, no encontrándose tolerancia en ninguna cepa a Cefotaxima.

Las tres cepas tolerantes, se aislaron de muestras procedentes de enfermos, uno de ellos con una endocarditis falleció a pesar del tratamiento médico con Ampicilina mas Gentamicina, otro con un cuadro de uretritis mejoró de su sintomatología tras tratamiento con Amoxicilina aunque, desconocemos si presentó recaída una vez concluido el periodo de seguimiento del paciente. La tercera cepa fue aislada de una muestra de semen en un paciente asintomático que no se trató.

Excepto Eritromicina en la que su caracter bacteriostático contraindica su empleo en el tratamiento de infecciones graves, los demás antibióticos anteriormente señalados, son alternativas válidas al tratamiento con Penicilina y las cefalosporinas presentan la ventaja de su mayor espectro en el tratamiento empírico de infecciones graves.

Sin embargo, y aunque no se han encontrado en este estudio, se han descrito cepas tolerantes "in vitro" a algunas cefalosporinas como Cefonicid y Ceftizoxima (29), por lo que ante infecciones graves y mientras no existan estudios mas amplios sería conveniente la determinación de la CMB de Cefotaxima o Ceftriaxona si se emplean en el tratamiento de infecciones graves por EGB.

De los derivados quinolónicos Ciprofloxacina resultó la mas activa (CMI90 1'2 ugr/ml.) y aunque teóricamente puede ser una alternativa a Penicilina, en el tratamiento de infecciones graves por cepas tolerantes de EGB, se carece de experiencia en adultos y no debe ser utilizada en el tratamiento de infecciones neonatales por sus efectos adversos en pacientes pediátricos.

Vancomicina y Teicoplanina son también alternativas en el tratamiento de infecciones por EGB y aunque Teicoplanina ha resultado mas activa, existe poca experiencia con su empleo por lo que es necesario, todavía, confirmar su utilidad en el tratamiento de este tipo de infecciones.

A pesar de que el número de cepas tolerantes a Penicilina es bajo, su existencia obliga ante infecciones graves a realizar determinación de CMI y CMB para descartar este fenómeno, aunque debe seguir considerandose a los beta lactámicos, antibióticos de primera elección para el tratamiento de la infección por EGB.

5.6 - ADHESIVIDAD A CELULAS EPITELIALES (Células HeLa y Hep-2).

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la capacidad de adherencia de los distintos serotipos de EGB en las dos líneas de células epiteliales empleadas. La adherencia encontrada en cepas procedentes de portadores (independientemente del serotipo aislado), fue significativamente menor que las de cepas aisladas de enfermos, excepto en las cepas procedentes de infecciones de úlceras isquémicas y las de infecciones genitales en varones. En estas últimas, aunque presentaron adherencias claramente mayores que los de cepas de portadores la diferencia no fue significativa, probablemente por el pequeño tamaño de la muestra (n=10).

Las cepas aisladas de pacientes con infecciones de úlceras isquémicas no mostraron diferencia en la capacidad de adherencia con las del grupo control (portadores), sin embargo son los pacientes incluidos en este grupo, en su mayoría diabéticos, en los que con mayor frecuencia se presentan infecciones de diferente localización por EGB.

Estos resultados sugieren, en coincidencia con otros autores (10), que factores del huésped además de la virulencia específica de la cepa, favorecerían la adhesión de EGB a células epiteliales y así su penetración e invasión de tejidos. Se ha sugerido que factores hormonales que ejercen influencia sobre la adherencia de EGB a células epiteliales vaginales (34), podrían justificar la incidencia de infección por EGB en gestantes.

CONCLUSIONES

VI. - CONCLUSIONES:

1. La tasa de colonización por EGB en adultos es similar en cualquier grupo de población y no está relacionada con la edad, con la gravidez, ni con la existencia de patología previa.
2. El empleo de antibióticos en adultos impide el aislamiento de EGB.
3. La mayoría de las infecciones por EGB se producen en pacientes previamente colonizados.
4. La infección por EGB en adultos se distribuye en tres grupos de población: 1) Mujeres jóvenes en el embarazo o puerperio. 2) Pacientes de mediana edad con patología de base. 3) Varones adultos jóvenes con cuadros de uretritis.
5. La infección urinaria es la más frecuente y afecta sobre todo a mujeres, en varones se presenta asociada a patología urológica. En gestantes se presentan ITU por EGB que cursan de forma asintomática, y en muchos casos sin leucocituria; por ello está indicado el empleo sistemático de medios adecuados para la detección de EGB en orina de embarazadas.
6. En infecciones de heridas y sobre todo de úlceras isquémicas, EGB se presenta generalmente como patógeno oportunista asociado a otros microorganismos

7. La tasa global de mortalidad en las infecciones por EGB es baja y depende de la patología de base asociada.
8. La identificación de EGB puede realizarse por la producción de pigmento en anaerobiosis en medios con almidón. Los medios sólidos con agentes selectivos y que permiten la detección de pigmento, pueden sustituir a los caldos selectivos en el diagnóstico de rutina.
9. Los sistemas comerciales que incorporan pruebas clásicas en la identificación de EGB, pueden ser útiles en el diagnóstico de rutina. Los sistemas automáticos que incluyen pruebas en las que las cepas de EGB dan resultados poco homogéneos, no son fiables.
10. No existe diferencia entre los serotipos aislados de enfermos y portadores. No existe asociación de serotipos con ninguna patología específica en adultos.
11. La adherencia, a células epiteliales, de las cepas de EGB es menor en las aisladas de portadores que en las de enfermos.
12. EGB sigue siendo muy sensible a Penicilinas y Cefalosporinas. La existencia de cepas tolerantes, indica la necesidad de realizar CMI y CMB a las aisladas en infecciones graves.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Ablow R.C.; Driscoll S.G.; Effmann E.L.; Gross I.; Jolles C.J.; Kauy R.; Warshaw J.B. (1976) A comparison of early onset group B streptococcal neonatal infection and the respiratory distress syndrome of the newborn. *N. Engl. J. Med.* 294: 65-70.
- 2.- Alk. M.L.; Beachey E.H. (1978) Excretion of lipoteichoic acid by group A streptococci. Influence of penicillin on excretion and loss of ability to adhere to human oral mucosal cells. *J. Clin. Inves.* 61: 661-667.
- 3.- Ancona R.J.; Ferrieri P.; Williams P.P. (1980) Maternal factors that enhance the acquisition of group B streptococci by newborn infant. *J. Med. Microbiol.* 13: 273-280.
- 4.- Anthony B.F. (1985) Epidemiology of GBS in man. *Antibiot. Chemother.* 35: 10-16.
- 5.- Anthony B.F. (1983) Gastrointestinal carriage of group B streptococci. Reply. *J. Infect. Dis.* 148: 361-362.
- 6.- Anthony B.F.; Carter J.A.; Eisenstadt R.; Rimer D.G. (1983) Isolation of group B streptococci from proximal small intestine of adults. *J. Infect. Dis.* 147: 776-777.

- 7.- Anthony B.F.; Okada D.M.; Hobel C.J. (1978) Epidemiology of group B streptococcus. Longitudinal observations during pregnancy. *J. Infect. Dis.* 137: 524-530.
- 8.- Anthony B.F.; Okada D.M.; Hobel C.J. (1979) Epidemiology of the group B streptococcus: Maternal and nosocomial sources for infant acquisitions. *J. Pediat.* 95: 431-436.
- 9.- Armitage P. (1977) *Statistical methods in medical research.* Blackwell. Oxford.
- 10.- Ayoub E.M.; Swingle H. (1985) Pathogenic mechanisms in neonatal GBS infection. *Antibiot. Chemother.* 35: 128-141.
- 11.- Badri M.S.; Zawaneh S.; Cruz A.C.; Mantilla G.; Baer H. Spellacy W.N.; Ayoub E.M. (1977) Rectal colonization with group B streptococcus: relation to vaginal colonization of pregnant women. *J. Infect. Dis.* 135: 308-312.
- 12.- Backes R.J.; Wilson W.R.; Geraci J.E. (1985) Group B streptococcal infective endocarditis. *Arch. Intern. Med.* 145: 693-696.
- 13.- Bagg J.; Poxton I.R.; Weir D.M.; Ross P.W. (1982) Binding to type III group B streptococci to buccal epithelial cells. *J. Med. Microbiol.* 15: 363-372.

- 14.- Baker C.J.; Edwards M.S. (1983) Group B streptococcal infections. pp. 820-821 In Remington JS, Klein JO (ed). Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 2nd.ed. WB Saunders Co. Philadelphia.
- 15.- Baker C.J.; Clark D.J.; Barret F.F. (1973) Selective broth medium for isolation of group B streptococci. Appl. Microbiol. 26: 884-885.
- 16.- Baker C.J. (1977) Summary of the workshop on perinatal infections due to group B streptococcus. J. Infect. Dis. 136: 137-152.
- 17.- Baker C.J.; Barret F.F. (1973) Transmission of group B streptococci among parturient women and their neonates. J. Pediatr. 83: 919-925.
- 18.- Baker C.J.; Barret F.F. (1974) Group B streptococcal infection in infants. J. Am. Med. Ass. 230: 1158-1160.
- 19.- Baker C.J. (1979) Group B streptococcal infections in neonates. Pediatr. Rev. 1: 5-15.
- 20.- Baker C.J.; Webb B.J.; Barret F.F. (1976) Antimicrobial susceptibility of group B streptococci isolated from a variety of clinical sources. Antimicrob. Agents Chemother. 10: 128-131.
- 21.- Baker C.J.; Thornsberry C.; Facklam R.R. (1981) Synergism, killing kinetics, and antimicrobial susceptibility of group A and B streptococci. Antimicrob. Agents Chemother. 19: 716-725.

- 22.- Baker C.J.; Rench M.A.; Edwards M.S.; Carpenter R.J.; Hays B.M.; Kasper D.L. (1988) Immunization of pregnant women with a polysaccharide vaccine of group B streptococcus. *N. Engl. J. Med.* 319: 1180-1185.
- 23.- Baker C.J.; Kasper D.L. (1976) Correlation of maternal antibody deficiency with susceptibility to neonatal group B streptococcal infection. *N. Engl. J. Med.* 294: 753-756.
- 24.- Baker C.J.; Webb B.J.; Jackson C.V.; Edwards M.S. (1980) Countercurrent immunoelectrophoresis in the evaluation of infants with group B streptococcal disease. *Pediatrics.* 65: 1110-1114.
- 25.- Baker C.J.; Rench M.A. (1983) Commercial latex agglutination for detection of group B streptococcal antigen in body fluids. *J. Pediat.* 102: 393-394.
- 26.- Baker C.J. (1986) Group B streptococcal infection in newborn. Prevention at last? *N. Engl. J. Med.* 314: 1702-1704.
- 27.- Baker C.J.; Edwards M.S.; Kasper D.L. (1978) Immunogenicity of polysaccharides from type III group B streptococcus. *J. Clin. Invest.* 61: 1107-1110.
- 28.- Barry A.L. (1986) Procedures for testing antimicrobial agents in agar media: Theoretical consideration. pp. 1-19 In Lorian V. (ed.) *Antibiotics in laboratory medicine*. 2nd.ed. Williams & Wilkins. Baltimore.

- 29.- Bayer A.S.; Morrison J.O.; Kim K.S. (1982) Comparative in vitro bactericidal activity of Cefonicid, Cef-tizoxime and Penicillin against group B streptococci. Antimicrob. Agents. Chemother. 21: 344-346.
- 30.- Bayer A.S.; Chow A.W.; Anthony B.F.; Guze L.B. (1976) Serious infections in adults due to group B Streptococci. Am. J. Med. 61: 498-503.
- 31.- Beachey E.H. (1981) Bacterial adherence: Adhesin receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surfaces. J. Infect. Dis. 143: 325-345.
- 32.- Bevanger L. (1985) The Ibc proteins. Antibiot Chemo-ther. 35: 101-113.
- 33.- Binnick A.N.; Klein R.B.; Baughman R.D. (1980) Re-current erysipelas caused by group B streptococcus organism. Arch. Dermatol. 16: 798-799.
- 34.- Botta G.A. (1979) Hormonal and type dependent adhe-sion of group B streptococci to human vaginal cells. Infect. Immunity. 25: 1084-1086.
- 35.- Boyer K.M.; Gotoff S.P. (1985) Strategies for chemo prophylaxis of GBS early onset infections. Antibiot. Chemother. 35: 267-280.

- 36.- Boyer K.M.; Gadzala C.A.; Kelly P.C.; Gottoff S.P. (1983) Selective intrapartum chemoprophylaxis of neonatal group B streptococcal early onset disease. III. Interruption of mother to infant transmission. *J. Infect. Dis.* 148: 810-816.
- 37.- Brook I. (1981) Urinary tract infection caused by group B streptococcus in infancy and childhood. *Urology.* 17: 428-430.
- 38.- Broughton R.A.; Baker C.J. (1983) Role of adherence in the pathogenesis of neonatal group B streptococcal infection. *Infect. Immunity.* 39: 837-843.
- 39.- Broughton D.D.; Mitchel W.G.; Grossman M.; Hadley W.K.; Cohen M.S. (1976) Recurrence of group B streptococcal infection. *J. Pediat.* 89: 183-185.
- 40.- Brzin B. (1977) Purulent conjunctivitis caused by group B streptococci. *Zentralb. Bakterirol. Hyg. (A)* 237: 565-568.
- 41.- Chretien J.H.; McGuinness C.G.; Thompson J.; Delaha E.; Garagusi V.F. (1979) Group B Beta-hemolytic streptococci causing pharyngitis. *J. Clin. Microbiol.* 10: 263-266.

- 42.- Christensen K.K.; Christensen P.; Dahlander K.; Faxellius G.; Jacobson B.; Svenningsen N. (1980) 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. Infect. Dis.* 12: 105-110.
- 43.- Christensen K.K.; Christensen P.; Lindberg A.; Svenning N. (1982) Low maternal IgG antibodies to carbohydrate antigens in neonatal group B streptococcal septicemia. Definition of a risk group. pp. 301-303 In Holm S.E. Christensen P. (eds) *Basic concepts of streptococci and streptococcal diseases.* Reedbooks Ltd. Chertsey, Surrey.
- 44.- Christensen K.K.; Christensen P. (1985) The R proteins. *Antibiot. Chemother.* 35: 114-118.
- 45.- Christensen K.K.; Christensen P. (1985) Chlorhexidine for prevention of neonatal colonization with GBS. *Antibiot Chemother.* 35: 296-302.
- 46.- Coll P.; Condom M.J.; Mirelis B.; Ausina V.; Prats G.; (1985) La susceptibilidad al trimetoprim sulfametoxazol en la diferenciacion de estreptococos. *Laboratorio* 79: 287-292.
- 47.- Collins L.E.; Clarke R.W.; Maskell R. (1986) Streptococci as urinary pathogens. *Lancet.* 1: 479-481.
- 48.- Conover W.J. (1980) *Practical nonparametric statistics.* John Wiley & Sons, New York.

- 49.- Cox F. (1982) Prevention of group B streptococcal colonization with topically applied lipoteichoic acid in a maternal newborn mouse model. *Pediatr. Res.* 16: 816-819.
- 50.- Daugaard H.O.; Thomsen A.C.; Henriques W.; Ostergaard A. (1988) Group B streptococci in the lower urogenital tract and late abortion. *Am. J. Obstet. Gynaecol.* 158: 28-31.
- 51.- Davis J.P.; Moggio M.V.; Klein D.; Tiiosejo L.L.; Welt S.I.; Wilfert C.M. (1979) Vertical transmission of group B streptococcus. Relation to intrauterine fetal monitoring. *J. Am. Med. Ass.* 242: 42-44.
- 52.- DeCueninck B.J.; Eisenstein T.K.; McIntosh T.S.; Shoc-kman G.D.; Swenson R.M. (1982) Type specific protection of neonatal rats from lethal group B streptococcal infection by immune sera obtained from human volunteers vaccinated with the type III specific polysaccharide. *Infect. Immunity.* 37: 961-965.
- 53.- Dillon H.C.Jr.; Gray E.; Pass M.A.; Gray B.M. (1982) Anorectal and vaginal carriage of group B streptococci during pregnancy. *J. Infect. Dis.* 145: 794-799.
- 54.- Dillon H.C.Jr. (1985) GBS: The childhood and adolescent years. *Antibiot. Chemother.* 35: 1-9.

- 55.- Dispensio J.R.; Barret J.E. (1985) Evaluation of The Spot CAMP test for the rapid presumptive identification of group B streptococci. *Am. J. Clin. Pathol.* 84: 216-219.
- 56.- Dunnet C.W. (1955) A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *J. Am. Statistical. Ass.* 50: 1096-1121.
- 57.- Durham D.L.; Mattingly S.J.; Doran T.I.; Milligan T.W.; Straus D.C. (1981) Correlation between the production of extracellular substances by type III group B streptococcal strains and virulence in a mouse model. *Infect. Immunity.* 34: 448-454.
- 58.- Dworzack D.L.; Hodges G.R.; Barnes W.G.; Rosett W. (1979) Group B streptococcal infections in adult males. *Am. J. Med. Sci.* 277: 67-73.
- 59.- Easmon C.S.F.; Hastings M.J.G.; Blowers A.; Bloxham B.; Deeley J.; Marwood R.; Rivers R.P.A.; Stringer J. (1983) Epidemiology of group B streptococci: one year's experience in an obstetric and special care baby unit. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 90: 241-246.
- 60.- Easmon C.S.F.; Tanna A.; Munday P.; Dawson S. (1981) Group B streptococci gastrointestinal organism? *J. Clin. Pathol.* 34: 921-923.

- 61.- Easmon C.S.F.; Hastings M.J.G.; Deeley J.; Bloxham B.; Rivers R.P.A.; Marwood R. (1983) The effect of intrapartum chemoprophylaxis on the vertical transmission of group B streptococci. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 90: 633-635.
- 62.- Easmon C.S.F.; Hasting M.J.G. (1985) GBS colonisation in mothers and babies. *Antibiot. Chemother.* 35: 28-39.
- 63.- Easmon C.S.F. (1986) Group B streptococcus. *Infect. Control.* 7: 135-137.
- 64.- Edwards M.S.; Baker C.J. (1985) *Streptococcus agalactiae* (Group B streptococcus) pp. 1155-1161. In Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE. (eds) *Principles and practice of infectious diseases*. 2nd.ed. John Wiley & Sons. New York.
- 65.- Edwards M.S.; Kasper D.L.; Baker C.J. (1979) Rapid diagnosis of type III group B strptococcal meningitis by latex particle agglutination. *J. Pediat.* 95: 202-205.
- 66.- Edwards M.S.; Rench M.A.; Haffar A.A.M.; Murphy M.A.; Desmond M.M.; Baker C.J. (1985) Long term sequelae of group B streptococcal meningitis in infants. *J. Pediat.* 106: 717-722.
- 67.- Eickoff T.C.; Klein J.O.; Daly A.K.; Ingall D.; Finland M. (1964) Neonatal sepsis and other infections due to group B beta hemolytic streptococci. *N. Engl. J. Med.* 271: 1221-1228.

- 68.- Facklam R.R.; Carey K.B. (1985) Streptococci and aerococci. pp. 154-173 In Lennette EH. Ballows A. Hausler WJ. Shadomy HJ. (eds.) Manual of Clinical Microbiology. 4th.ed. American Society for Microbiology. Washington.
- 69.- Fallon R.J. (1974) The rapid recognition of Lancefield group B haemolytic streptococci. J. Clin. Pathol. 27: 902-905.
- 70.- Faro S. (1981) Group B beta-hemolytic streptococci and puerperal sepsis. Am. J. Obstet. Gynaecol. 139: 686-689.
- 71.- Feldman W.E. (1976) Concentrations of bacteria in cerebrospinal fluid of patients with bacterial meningitis. J. Pediat. 88: 549-552.
- 72.- Fenoll A.; Vazquez J.A.; Berron S.; Saez J.A. (1988) Marcadores epidemiologicos de Streptococcus agalactiae (EGB): biotipos, serotipos y susceptibilidad a antimicrobianos de cepas aisladas de enfermos y portadores. Rev. San. Hig. Pub. 62: 1371-1385.
- 73.- Fenton L.J.; Harper M.H. (1979) Evaluation of colistin and nalidixic acid in Todd Hewitt broth for selective isolation of group B streptococci. J. Clin. Microbiol. 9: 167-169.

- 74.- Ferrieri P.; Cleary P.P.; Seeds A.E. (1977) Epidemiology of streptococcal carriage in pregnant women and newborn infants. *J. Med. Microbiol.* 10: 103-114.
- 75.- Ferrieri P. (1985) GBS infections in the newborn infant: Diagnosis and treatment. *Antibiot. Chemother.* 35: 211-222.
- 76.- Ferrieri P. (1985) GBS Enzymes, Hemolysin, Toxins and other products. *Antibiot Chemother.* 35: 57-70.
- 77.- Finch R.G.; French G.L.; Phillips I. (1976) Group B streptococci in the female genital tract. *Br. Med. J.* 1: 1245-1247.
- 78.- Fingold D.S.; Stagg N.L.; Kunz N.J. (1966) Extra-respiratory streptococcal infections. *N. Engl. J. Med.* 275: 356-361.
- 79.- Fisher G. (1983) Summary the national institutes of health workshop on group B streptococcal infection. *J. Infect. Dis.* 148: 163-166.
- 80.- Franciosi R.A.; Knotsman J.D.; Zimmerman R.A. (1973) Group B streptococcal neonatal and infant infections. *J. Pediat.* 82: 707-718.
- 81.- Friedman C A.; Wender D.F.; Rawson J.E. (1984) Rapid diagnosis of group B streptococcal infection utilizing a commercially available latex agglutination assay. *Pediatrics.* 73: 27-30.

- 82.- Gallagher P.G.; Watanakunakorn C. (1985) Group B streptococcal bacteriemia in a community teaching hospital. *Am. J. Med.* 78: 795-800.
- 83.- Gardner S.E.; Yow M.D.; Leeds L.J.; Thompson P.K.; Mason E.D.; Clark D.J. (1979) Failure of penicillin to eradicate group B streptococcal colonization in the pregnant woman. A couple study. *Am. J. Obstet. Gynaecol.* 135: 1062-1065.
- 84.- Gibbs R.S.; Blanco J.D. (1981) Streptococcal infections in pregnancy. A study of 48 bacteremias. *Am J. Obstet. Gynaecol.* 140: 405-411.
- 85.- Gotoff S.P.; Boyer K.M. (1985) Cellular and humoral aspect of host defense mechanism against GBS. *Antibiot. Chemother.* 35: 142-156.
- 86.- Gray B.M.; Pass M.A.; Dillon H.C. (1979) Laboratory and field evaluation of selective media for isolation of group B streptococci. *J. Clin. Microbiol.* 9: 466-470.
- 87.- Gunn B.A.; Ohashi D.K.; Gaydos C.A.; Holt E.S. (1977) Selective and enhanced recovery of group A and B streptococci from throat cultures with sheep blood agar containing sulfamethoxazole and trimethoprim. *J. Clin. Microbiol.* 5: 650-654.

- 88.- Hall R.T.; Barnes W.; Krishan R.; Harris D.J.; Rhodes P.G.; Favez J.; Miller G.L. (1976) Antibiotic treatment of parturient women colonized with group B streptococci. Am. J. Obstet. Gynaecol. 24: 630-634.
- 89.- Hardie J.M. (1986) Genus Streptococcus pp. 1043-1071 In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Sneath PHA. Mair NS. Sharpe ME. Holt JG. (eds.) 1st.ed. Williams & Wilkins. Baltimore.
- 90.- Hemming V.G.; London W.T.; Curfman B.L.; Patrick D.F.; Fischer G.W. (1985) Maternal humoral immunity and neonatal GBS infection: Studies in a primate model. Antibiot. Chemother. 35: 194-200.
- 91.- Henrichsen J. (1985) The bacteriology of GBS. Antibiot Chemother 35: 53-56.
- 92.- Hershfield F. (1979) Plasmids mediating multiple drug resistance in group B streptococcus: transferability and molecular properties. Plasmid. 2: 137-149.
- 93.- Hoffstedt B.; Johansson O.; Walder M.; Cronberg S.; Price J.D. (1980) Cerebrospinal fluid penetration of cefuroxime. Curr. Chemother. Infect. Dis. 1: 634-635.
- 94.- Hood M.; Janney A.; Dameron G. (1961) Beta hemolytic streptococcus group B associated with problems of the perinatal period. Am. J. Obstet. Gynaecol. 82: 809-818.

- 95.- Howard J.B.; McCracken G.H. Jr. (1974) The spectrum of group B streptococcal infections in infancy. *Am. J. Dis. Child.* 128: 815-818.
- 96.- Ingram D.L.; Suggs D.M.; Pearson A.W. (1982) Detection of group B streptococcal antigen in early onset and late onset group B streptococcal disease with the Wellcogen Strep B latex agglutination test. *J. Clin Microbiol.* 16: 656-658.
- 97.- Ingram D.L.; Pendergrass E.L.; Bromberger P.I.; Thullen J.D.; Yoder C.D.; Collier A.M. (1980) Group B streptococcal disease. Its diagnosis with the use of antigen detection, Gram's stain, and the presence of apnea, hypotension. *Am. J. Dis. Child.* 134: 754-758.
- 98.- Isenberg H.D.; Washington J.A.; Balows A.; Sonnenwirth A.C. (1985) Collection, Handling and processing of specimens. pp. 73-98 In Lennette EH. Balows A. Hausler WJ. Shadomy HJ. (eds.) *Manual of Clinical Microbiology.* 4 th.ed. American Society for Microbiology. Washington.
- 99.- Islam A. (1977) Rapid recognition of group B streptococci. *Lancet* 1: 256-257.
- 100.- Jacobs M.R.; Kelly F.; Speck W.T. (1982) Susceptibility of group B streptococci to 16 B-lactam antibiotic, including new penicillin and cephalosporin derivatives. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 22: 897-900.
- 101.- Jelinkova J.; Motlova J. (1985) The nomenclature of GBS. *Antibiot. Chemother.* 35: 49-52.

- 102.- Jensen N.E.; Anderson B.L. (1979) The prevalence of group B streptococci in human urogenital secretions. Scand. J. Infect. Dis. 11: 199-202.
- 103.- Jensen N.E. (1985) Epidemiological aspect of human animal interrelationship in GBS. Antibiot Chemother. 35: 40-48.
- 104.- Jonh J.F. Jr.; Cook F.V. (1977) Case report: Endocarditis associated with disseminated group B streptococcal infection. Am. J. Med. Sci. 274: 177.
- 105.- Kasper D.L.; Baker C.J.; Galdes B.; Katzellenbogen E.; Jennings H.J. (1983) Immunochemical analysis and immunogenicity of the type II group B streptococcal polysaccharide. J. Clin. Invest. 72: 260-269.
- 106.- Kasper D.L.; Baker C.J.; Jennings H.J. (1985) Cell structure and antigenic composition of GBS. Antibiot. Chemother. 35: 90-100.
- 107.- Katzenstein A.L.; Davis C.; Braude A. (1976) Pulmonary changes in neonatal sepsis due to group B B-hemolytic Streptococcus in relation to hyaline membrane disease. J. Infect. Dis. 133: 430-435.
- 108.- Klegerman M.E.; Boyer K.M.; Papiernaiak C.K.; Gotoff S.P. (1983) Estimation of the protective level of human IgG antibody to the type specific polysaccharide of group B streptococcus type Ia. J. Infect. Dis. 148: 648-655.

- 109.- Kim K.S. (1985) Antimicrobial susceptibility of GBS. *Antibiot. Chemother.* 35: 83-89.
- 110.- Kim K.S.; Anthony B.F. (1981) Penicilin tolerance in group B streptococci isolated from infected neonates. *J. Infect. Dis.* 144: 411-419.
- 111.- Kim K.S.; Yoshimori R.N.; Imagawa D.T.; Anthony B.F. (1979) Importance of medium in demonstrating penicillin tolerance by group B streptococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 16: 214-216.
- 112.- Kim K.S. (1987) Effect of antimicrobial therapy for experimental infections due to group B Streptococcus on mortality and clearance of bacteria. *J. Infect. Dis.* 155: 1233-1241.
- 113.- Kjems E.; Perch B.; Herichsen J. (1980) Serotypes of group B streptococci and their relation to hyaluronidase production and hydrolysis of salicin. *J. Clin. Microbiol.* 11: 111-113.
- 114.- Laster A.J.; Michels M.L. (1984) Group B streptococcal arthritis in adults. *Am. J. Med.* 76: 910-915.
- 115.- Lauri D.; Thrupp M.D. (1986) Susceptibility testing of antibiotics in liquid media. pp. 93-142. In Lorian V. (ed.). *Antibiotics in laboratory medicine*. 2nd.ed. Williams & Wilkins. Baltimore.

- 116.- Lerner P.I.; Gopalakrishna K.V.; Wollinsky E.; McHenry M.C.; Tan J.S.; Rosenthal M. (1977) Group B streptococcus (*S.agalactiae*) bacteriemia in adults: analysis of 32 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 56: 457-473.
- 117.- Lewin E.B.; Amstey M.S. (1981) Natural history of group B streptococcus colonization and its therapy during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynaecol.* 139: 512-515.
- 118.- Lim D.V.; Morales W.J.; Walsh A.F.; Kazanis D. (1986) Reduction of morbidity and mortality rates for neonatal group B streptococcal disease through early diagnosis and chemoprophylaxis. *J. Clin. Microbiol.* 23: 489-492.
- 119.- Lutticken R. (1985) The genetics of GBS. *Antibiot. Chemother.* 35: 71-82.
- 120.- MacFaddin J.F. (1985) Media for isolation, cultivation, identification, maintenance of medical bacteria. pp: 359-361. Williams & Wilkins. Baltimore.
- 121.- MacFaddin J.F. (1980) Biochemical test for identification of medical bacteria. pp.18-36. 2nd.ed. Williams & Wilkins. Baltimore.
- 122.- Malhu F.S. (1976) Infection with *Streptococcus agalactiae* in a London hospital. *J. Clin. Pathol.* 29: 309-312.

- 123.- Malhu F.S. (1977) *Streptococcus agalactiae* in urinary tract infections. *Postgrad. Med. J.* 53: 216-218.
- 124.- Mardh P.A.; Westrom L. (1976) Adherence of bacteria to vaginal epithelial cells. *Infect. Immunity.* 13: 661-666.
- 125.- Mayer K.H.; Schoenbaum S.C. (1982) Evaluation and management of prosthetic valve endocarditis. *Prog. Cardiovas. Dis.* 25: 43-54.
- 126.- Mayon-White R.T. (1985) The incidence of GBS disease in neonates in different countries. *Antibiot. Chemother.* 35: 17-27.
- 127.- McGuire T.; Gerjarusak P.; Hinthorn D.R.; Liu C. (1977) Osteomyelitis by B-hemolytic streptococcus group B. *J. Am. Med. Ass.* 238: 2054-2055.
- 128.- Mead P.J.; Harris R.E. (1978) The incidence of group B beta hemolytic streptococcus in antepartum urinary tract infections. *Obstet. Gynaecol.* 51: 412-414.
- 129.- Menke J.A.; Giacoia G.P.; Jockin N. (1979) Group B beta haemolytic streptococcal sepsis and the idiopathic respiratory distress syndrome: A comparison. *J. Pediat.* 94: 467-471.

- 130.- Merenstein G.B.; Todd W.A.; Brown G.; Yost C.C.; Wzier T. (1980) Group B Beta-hemolytic streptococci: randomized controlled treatment study at term. *Obstet. Gynaecol.* 55: 315-318.
- 131.- Merrit K.; Jacobs N.J. (1978) Characterization and incidence of pigment production by human clinical group B streptococci. *J. Clin. Microbiol.* 8: 105-107.
- 132.- Merrit K.; Jacobs N.J. (1976) Improved medium for detecting pigment production by group B streptococci. *J. Clin. Microbiol.* 4: 379-380.
- 133.- Milligan T.W.; Baker C.J.; Straus D.C.; Mattingly S.J. (1978) Association of elevated levels of extracellular neuraminidase with clinical isolates of type III group B streptococci. *Infect. Immunity.* 21: 738-746.
- 134.- Moller M.; Borch K.; Thomsen A.C.; Dinesen K.; Zdravkovic M. (1984) Rupture of fetal membranes and premature delivery associated with group B streptococci in urine of pregnant women. *Lancet.* 1: 69-70.
- 135.- Murphy A.; Shaw R.; McAllister T.A. (1987) Significance of group B streptococci (*Strep. agalactiae*) in children's urinary tract infection. *Lancet* 1: 98-99.
- 136.- Nealon T.J.; Mattingly S.J. (1983) Association of elevated levels of cellular lipotechoic acids of group B streptococci with human neonatal disease. *Infect. Immunity.* 39: 1243-1251.

- 137.- Nealon T.J.; Mattingly S.J. (1984) Role of cellular lipoteichoic acid in mediating adherence of serotype III strains of group B streptococci to human embryonic, fetal, and adult epithelial cells. *Infect. Immunity.* 43: 523-530.
- 138.- Niklason P.M.; Back C.; Kalin M.; Wadstrom I. (1976) Group B streptococcal meningitis in children and adult. A report of three cases and detection of antibodies with crossed immunoelectrophoresis. *Scand. J. Infect. Dis. B:* 165-168.
- 139.- Noble M.A.; Bent J.M.; West A.D. (1983) Detection and identification of group B streptococci by use of pigment production. *J. Clin. Pathol.* 36: 350-352.
- 140.- Noya F.; Rench M.; Metzger T.; Colman G.; Naidou J.; Baker C.J. (1987) Unusual occurrence of an epidemic of type Ib/c group B streptococcal sepsis in a neonatal intensive care unit. *J. Infect. Dis.* 155: 1135-1144.
- 141.- Paredes A.; Wong P.; Mason E.O. Jr.; Taber L.H.; Barret F.F. (1977) Nosocomial transmission of group B streptococci in a newborn nursery. *Pediatrics.* 59:679-682.
- 142.- Pass M.A.; Gray B.M.; Dillon H.C. Jr. (1982) Puerperal and perinatal infections with group B streptococci. *AM. J. Obstet. Gynecol.* 143: 147-152.

- 143.- Patterson M.J.; Hafeez A. (1976) Group B streptococci in human disease. *Bacteriol. Rev.* 40: 774-792.
- 144.- Perch B.; Kiems E.; Herichsen J. (1979) New serotypes of group B streptococci isolated from human sources. *J. Clin. Microbiol.* 10: 109-110.
- 145.- Persson K.; Christensen K.; Christensen P.; Forsgren A.; Jorgensen C. (1987) Asymptomatic bacteriuria during pregnancy with special reference to group B streptococci. *Scand. J. Infect. Dis.* 17: 195-199.
- 146.- Persson K.; Grabe H.; Kristiansen P. (1988) Significance of group B streptococci in urine from males and non pregnant females. *Scand. J. Infect. Dis.* 20: 47-53.
- 147.- Pyati S.P.; Pildes R.S.; Jacobs N.M.; Ramamurthy R.S.; Jeh T.F.; Raval D.S.; Lilien L.D.; Anna P.; Metzger W.I. (1983) Penicillin in infants weighing two kilograms or less with early onset group B streptococcal disease. *N. Engl. J. Med.* 308: 1383-1388.
- 148.- Reardon E.P.; Noble M.A.; Luther E.R.; Wort A.J.; Burt J.; Swift M. (1984) Evaluation of a rapid method for the detection of vaginal group B streptococci in women in labor. *Am. J. Obstet. Gynaecol.* 148: 575-579.
- 149.- Ribera E.; Villegas C.; Pignau A.; Planes A.; Coira A. (1988) Bacteriemia por *Streptococcus agalactiae* en adultos: estudio de 46 casos ingresados en el hospital Vall d'Hebron (1978-1985). *Med. Clin. (Barc)* 91: 211-213.

- 150.- Rosa M.; Martinez Brocal A.; Navarro J.M.; Palop B. (1984) Susceptibility and tolerance of group B streptococci (GBS) to 11 B-lactam antibiotics and 6 quinolone derivatives. *Chemother.* 4: 460-461.
- 151.- Rosa M.; Villarreal R.; Vega D.; Miranda C.; Martinez Brocal A. (1983) Granada medium for detection and identification of group B streptococci. *J. Clin. Microbiol.* 18: 779-785.
- 152.- Ross P.W. (1984) Group B streptococcus, profile of an organism. *J. Med. Microbiol.* 18: 139-166.
- 153.- Ross P.W.; Cumming C.G. (1982) Group B streptococci in women attending a sexually transmitted diseases clinic. *J. Infect.* 4: 161-166.
- 154.- Ruiz Gomez D.; Tarapay M.M.; Riley H.D. (1979) Recurrent group B streptococcal infection: Report of three cases. *Scand. J. Infect. Dis.* 11: 35-38.
- 155.- Ruch F.E. Jr.; Smith L. (1982) Monoclonal antibody to streptococcal group B carbohydrate: applications in latex agglutination and immunoprecipitin assays. *J. Clin. Microbiol.* 16: 145-152.
- 156.- Santinga J.T.; Kirsh M.; Fekety R. (1984) Factors affecting survival in prosthetic valve endocarditis: Review of the effectiveness of prophylaxis. *Chest.* 85: 471-475.

- 157.- Schauf V.; Deveikis A.; Riff L.; Serota A. (1976) Antibiotic killing kinetics of group B streptococci. *J. Pediat.* 89: 194-198.
- 158.- Sellinger D.S.; Julie N.; Reed W.P.; Williams R.C. Jr. (1978) Adherence of group A streptococci to pharyngeal cells: a role in the pathogenesis of rheumatic fever. *Science.* 201: 455-457.
- 159.- Sherris J.C. (1986) Problems in in vitro determination of antibiotic tolerance in clinical isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 30: 633-637.
- 160.- Shigeoka A.O.; Rote N.S.; Santos J.I.; Hill H.R. (1983) Assessment of the virulence factors of group B streptococci: correlation with sialic acid content. *J. Infect. Dis.* 147: 857-863.
- 161.- Siegel J.D.; MacCracken G.H. Jr.; Threlkeld N.; DePasse B.N.; Rosenfeld C.R. (1982) Single dose penicillin prophylaxis of neonatal group B streptococcal disease. Conclusion of a 41 month controlled trial. *Lancet* 2: 1426-1430.
- 162.- Slifkin M.; Freedel D.; Gil G.M. (1982) Direct serogrouping of group B streptococci from urogenital and gastric swabs with nitrous acid extraction and the phadebact streptococcus test. *Am. J. Clin. Pathol.* 78: 850-853.

- 163.- Small C.B.; Slater L.N.; Lowy F.D.; Small R.D.; Salvati E.A.; Casey J.I. (1984) Group B streptococcal arthritis in adults. *Am. J. Med.* 76: 367-375.
- 164.- Steere A.C.; Aber R.C.; Warford L.R.; Murphy K.E.; Feeley J.C.; Hayes P.S.; Wilkinson H.W.; Facklam R.R. (1975) Possible nosocomial transmission of group B streptococci in a newborn nursery. *J. Pediat.* 87: 784-787.
- 165.- Stringer J. (1980) The development of a phage typing systems for group B streptococci. *J. Clin. Microbiol.* 13: 133-144.
- 166.-Swingle H.M.; Bucciarelli R.L.; Ayoub E.M. (1985) Synergy between penicillins and low concentrations of gentamicin in the killing of group B streptococci. *J. Infect. Dis.* 152: 515-520.
- 167.- Tabatai M.F.; Sapico F.L.; Canawati H.N.; Harley H.A.J. (1986) Sternoclavicular joint infection with group B streptococcus. *J. Rheumatol.* 13: 466-468.
- 168.- Tapsall J.W. (1986) Pigment production by Lancefield group B streptococci (*Streptococcus agalactiae*) *J. Med. Microbiol.* 21: 75-81.
- 169.- Tapsall J.W.; Phillips E.A. (1987) Presumptive identification of group B streptococci by rapid detection of CAM factor and pigment production. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* 7: 225-228.

- 170.- Thomsen A.C.; Morup L.; Hansen K. (1987) Antibiotic elimination of group B streptococci in urine in prevention of preterm labour. *Lancet*. 1: 591-593.
- 171.- Tuomanen E. (1986) Phenotypic tolerance: The research for B - lactams antibiotics that kill non growing bacteria. *Rev. Infect. Dis.* 8: 8-3. 279-291.
- 172.- Verghese A.; Mireault K. (1986) Group B streptococcal bacteriemia in men. *Rev. Infect. Dis.* 8: 912-917.
- 173.- Vogel L.C.; Kretschmer R.R.; Boyer K.M.; Padnos D.M.; Gadzala C.A.; Gotoff S.P. (1979) Human immunity to group B streptococci measured by indirect immunofluorescence: correlation with protection in chick embryos. *J. Infect. Dis.* 140: 682-689.
- 174.- Vollman J.H.; Smith W.L.; Ballard E.T.; Light I.J. (1976) Early onset group B streptococcal disease: clinical roentgenographic, and pathologic features. *J. Pediat.* 89: 199-203.
- 175.- Waitkins S.A. (1982) A selective and diferential medium for group B streptococci. *Med. Lab. Sci.* 39: 185-188.
- 176.- Wallin J.; Forsgren A. (1975) Group B streptococci in venereal disease clinic patients. *Br. J. Vener. Dis.* 51: 401-404.

- 177.- Wang E.E.L.; Hammerberg O.; Lym P.; Hunter D.; Richardson H. (1988) Rapid detection of group B streptococcal carriage in parturient woman using a modified starch serum medium. Clin. Inves. Med. 11: 52-56.
- 178.- Webb B.J.; Edwards M.S.; Baker C.J. (1986) Comparison of slide coagglutination test and countercurrent immunoelectrophoresis for detection of group B streptococcal antigen in cerebrospinal fluid from infant with meningitis. J. Clin. Microbiol. 11: 263-265.
- 179.- Wilkinson H.W. (1978) Analysis of group B streptococcal types associated with disease in human infants and adults. J. Clin. Microbiol. 7: 176-179.
- 180.- Wilkinson H.W.; Eagon R.G. (1971) Type-specific antigens of group B type Ic streptococci. Infect. Immunity. 4: 596-604.
- 181.- Williams J.D. (1986) Bacteriuria in pregnancy. In Microbial disease in nephrology. Asscher AW. and Brumfitt W. (eds.). Wiley & Sons. New York.
- 182.- Wiseman A.; René P.; Crelinsten G.L. (1985) Streptococcus agalactiae endocarditis: An association with villous adenomas of the large intestine. Ann. Inter. Med. 103: 893-894.
- 183.- Wood E.; Dillon H. (1981) A prospective study of group B streptococcal bacteriuria in pregnancy. Am. J. Obstet. Gynaecol. 140: 515-520.

- 184.- Yow M.D.; Leeds L.J.; Thompson P.K.; Mason E.O.; Clark D.J.; Beachler C.W. (1980) The natural history of group B streptococcal colonization in the pregnant women and her offspring. *Am. J. Obstet. Gynaecol.* 137: 34-38.
- 185.- Yow M.D.; Mason E.O.; Leeds L.J. (1979) Ampicillin prevents intrapartum transmission of group B streptococci. *J. Am. Med. Ass.* 241: 1245-1247.
- 186.- Zawaneh S.M.; Ayoub E.M.; Baer H.; Cruz A.C.; Spellacy W.N. (1979) Factors influencing adherence of group B streptococci to human vaginal epithelial cells. *Infect. Immunity.* 26: 441-447.