

AISLAMIENTO FARÍNGEO DE ESTREPTOCOCOS BETAHEMOLÍTICOS UTILIZANDO CALDO TODD-HEWITT EN INDIVIDUOS ASINTOMÁTICOS CON Y SIN PREVIO CEPILLADO DENTAL

PHARYNGEAL ISOLATION OF BETAHAEMOLITHIC STREPTOCOCCI USING TODD-HEWITT BROTH IN ASYMPTOMATIC INDIVIDUALS WITH AND WITHOUT PREVIOUS DENTAL BRUSHING

CLARA NANCY GUTIÉRREZ¹, NURY ALEJANDRA GUZMÁN³, YUCELY ANDREÍNA GONZÁLEZ⁴, JUAN JESÚS LUIS-LEÓN¹,
LUIS MANUEL PÉREZ-YBARRA², MARÍA ZOIRET CHACÓN¹

*Universidad de Carabobo, Sede Aragua, Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento de Microbiología,
¹Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas "Dr. Carlos Palacios", ²Departamento de Ciencias Básicas,
Maracay, Venezuela, ³Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Sanidad Animal, Laboratorio
de Bacteriología, Maracay, Venezuela, ⁴Industrias Kellogg's, Laboratorio de Calidad y Seguridad Alimentaria,
Maracay, Venezuela. E-mail: claranancy88@hotmail.com / claranancy@gmail.com*

RESUMEN

Los estreptococos beta hemolíticos son bacterias capaces de producir patologías graves y cuadros clínicos con secuelas permanentes, particularmente en la población infantil. El exudado faríngeo y posterior aislamiento en agar sangre es el método más comúnmente utilizado para su identificación. Actualmente, se ha observado que algunos laboratorios recomiendan no cepillarse los dientes antes de la realización del exudado faríngeo mientras que hay algunos autores que recomiendan el cepillado de dientes antes del examen. En consecuencia, el objetivo de esta investigación fue determinar el aislamiento faríngeo de estas bacterias utilizando caldo Todd-Hewitt en individuos asintomáticos con y sin previo cepillado dental. La muestra estuvo representada por 203 jóvenes asintomáticos, entre 10 y 15 años de edad, de los géneros masculino y femenino provenientes de cuatro instituciones educativas del municipio "Francisco Linares Alcántara", estado Aragua, Venezuela. El grupo de estreptococo beta hemolítico más frecuentemente aislado correspondió al grupo G (42%). El número de aislamientos de estreptococos beta hemolíticos fue significativamente mayor ($p = 0,0011$) en el grupo que no se cepilló los dientes ($n = 17/104$) en comparación con el grupo que sí lo hizo ($n = 2/99$). La incubación del hisopo correspondiente a la muestra del exudado faríngeo en el caldo Todd-Hewitt antes de la siembra en agar sangre, favoreció notablemente la recuperación de estreptococos beta hemolíticos comparado con la técnica de siembra directa del hisopo en agar sangre. Se halló una fuerza de concordancia pobre ($\kappa = 0,16943$) entre las técnicas empleadas y diferencias estadísticamente significativas entre el número de aislamiento de estreptococos beta hemolíticos mediante la aplicación de ambos procedimientos (18 vs. 3; $p = 0,02060$). Estos hallazgos demuestran que el no cepillado dental y la incubación previa en caldo Todd-Hewitt favorecen el aislamiento de estos microorganismos.

PALABRAS CLAVE: *Streptococcus pyogenes*, exudado faríngeo, cepillado dental, caldo Todd-Hewitt.

ABSTRACT

Beta-hemolytic streptococci are bacteria capable to inflict serious pathologies and leave permanent consequences, particularly in the children population. The pharyngeal exudate and posterior isolation in blood agar is the most common method used for their identification. Currently, it has been observed that some researchers recommend not to brush the teeth before the completion of the throat swab while some authors recommend brushing the teeth before the test. In consequence, the objective of the present study was to determine the isolation of these bacteria using Todd-Hewitt broth in asymptomatic individuals with and without dental brushing. The sample was a group of 203 asymptomatic children within the age 10 to 15 years old, of both sexes, enrolled in four schools from "Francisco Linares Alcántara" Municipality, Aragua State, Venezuela. The group of beta-hemolytic streptococci most often isolated corresponded to the group G (42%). The number of beta-hemolytic streptococci isolations was significantly higher ($p = 0.0011$) in the group who had not brushed their teeth ($n = 17/104$) in comparison with the group of youths who did ($n = 2/99$). The incubation on the cotton swab corresponding to the pharyngeal exudate in Todd Hewitt broth before the inoculation on the Blood Agar, favored noticeably the recuperation of beta-hemolytic streptococci compared with the technique of direct seeding the swab on blood agar. A weak agreement was found in the concordance strength ($\kappa = 0.16943$) between the used techniques and there were statistically significant differences between the number of beta-hemolytic streptococci isolations through the execution of both procedures (18 vs. 3; $p = 0.02060$). These findings demonstrate that the no-teeth-brushing and the previous incubation of the swab? in Todd Hewitt broth enhances the isolation of these microorganisms.

KEY WORDS: *Streptococcus pyogenes*, throat swab, teeth brushing, Todd-Hewitt's broth.

INTRODUCCIÓN

Streptococcus pyogenes (estreptococo beta hemolítico

del grupo A; EBHGA) es un coco Gram positivo que infecta a la población infantil provocando faringitis, otitis, erisipela, escarlatina, entre otros cuadros clínicos,

aunque la población adulta también es susceptible (Winn *et al.* 2008, Samson y Kwok-Yung 2012). La faringitis es el cuadro clínico más frecuente y se caracteriza por la inflamación de la faringe y amígdalas. Esta bacteria también puede originar secuelas permanentes como la glomerulonefritis y fiebre reumática, particularmente en niños y adolescentes (Hahn *et al.* 2005, Cunningham 2008, Henningham *et al.* 2012, Kumar y Tandon 2013). Probablemente la vulnerabilidad de este grupo etario se relaciona a que este grupo asiste a lugares de espacio reducido como es el caso de las escuelas cerradas, las cuales son áreas propicias para la proliferación de la bacteria dando una mayor probabilidad de contagio al individuo (Cunningham 2008, Pérez *et al.* 2008, Winn *et al.* 2008). Los estreptococos de los grupos C y G han tomado importancia en los últimos años (sobre todo en los países tropicales) como agentes causales de faringitis (Lindbaek *et al.* 2005, Winn *et al.* 2008, Bramhachari *et al.* 2010).

La transmisión de la faringitis estreptocócica se realiza de persona a persona, a través de gotitas de saliva o secreciones respiratorias y se ha demostrado que los portadores asintomáticos juegan un papel fundamental en la transmisión; de ahí la gran importancia que representa su búsqueda y control a fin de evitar la diseminación de las infecciones estreptocócicas (Romero *et al.* 2002, Roberts *et al.* 2012).

El cultivo del hisopado faríngeo en agar sangre de carnero al 5% es el método de referencia o patrón de oro (del inglés: “*gold standard*”) para el aislamiento de *S. pyogenes* y otros estreptococos beta hemolíticos, sin embargo deben cumplirse condiciones adecuadas, ya que éstas son bacterias de difícil aislamiento y deben tomarse todas las precauciones para evitar reportar resultados erróneos, principalmente falsos negativos (Valencia *et al.* 2010). Actualmente se observa que hay laboratorios que recomiendan el no cepillado de los dientes antes de la realización del exudado faríngeo mientras que hay autores que recomiendan cepillarse los dientes antes de la realización del examen (Velasco *et al.* 2011). Debido a esta observación, uno de los objetivos de la presente investigación fue la comparación del aislamiento de estreptococos beta hemolíticos previo al cepillado y no cepillado de dientes antes de la realización del exudado faríngeo. Por otro lado, una práctica que permite una buena recuperación de estreptococos beta hemolíticos es la incubación del hisopo en caldo Todd-Hewitt durante 3 a 5 horas a 35°C previa a la siembra en placas de agar sangre (Matas *et al.* 2008), por lo tanto, en este estudio también se comparó este procedimiento con la siembra

directa del hisopo en agar sangre de carnero al 5%.

MATERIALES Y MÉTODOS

El nivel de la presente investigación fue de tipo descriptivo, diseño de campo, tipo transeccional o transversal.

La población en estudio estuvo constituida por 906 individuos inscritos en cuatro instituciones educativas, dos públicas y dos privadas del municipio “Francisco Linares Alcántara” del estado Aragua para el periodo académico 2011-2012. Para la selección de la muestra se utilizó un método de muestreo no probabilístico de tipo intencional. Se utilizaron como criterios de inclusión, escolares con edades comprendidas entre los 10 a 15 años, sin síntomas de infección faríngea actual, sin tratamiento con antibióticos actual o que no hubieran recibido tratamiento con antibióticos en los últimos 15 días. Respetando las normas éticas concordantes con la Declaración de Helsinki de 1964, enmendada en 2008, y del Código de Ética para la Vida del Ministerio del Poder Popular para la Ciencia, Tecnología e Industrias Intermedias (República Bolivariana de Venezuela) del año 2011, se solicitó el consentimiento informado de participación a todos los padres y representantes de aquellos estudiantes incluidos en la investigación. La muestra estuvo constituida por 203 individuos, de los cuales 99 se cepillaron los dientes y 104 no se cepillaron los dientes. Para la realización del exudado faríngeo, un hisopo estéril se frotó cuidadosamente entre los pilares tonsilares y debajo de la úvula, con la prevención de no tocar las paredes laterales de la cavidad bucal o de la lengua. Rápidamente el hisopo se colocó en medio de transporte (Stuart) para la posterior siembra en agar sangre de carnero al 5%. Seguidamente se tomó una segunda muestra de exudado faríngeo con otro hisopo de algodón estéril, el cual se colocó inmediatamente en caldo Todd-Hewitt.

Con la intención de aislar los estreptococos beta hemolíticos se sembró en una placa de agar sangre de carnero al 5% por el método de estría y punción (Winn *et al.* 2008). El hisopo contenido en el caldo de Todd-Hewitt se incubó a 35°C durante 4 horas. Transcurrido este tiempo se sembró un inóculo en una placa de agar sangre de carnero al 5% por el método antes mencionado. Ambas placas se incubaron a 35°C en ambiente de microaerofilia (5-10% de CO₂) durante 24 a 48 horas.

Posteriormente se buscaron las colonias beta hemolíticas sospechosas y se subcultivaron en

placas de agar sangre y se incubaron a 35°C durante 18 a 24 horas. A partir de este aislado se realizó tinción de Gram. El aislado se resembró en agar BHI (*Brain-Heart-Infusion*) en taco inclinado para realizar la prueba de la catalasa. Por último se procedió a la identificación de grupo mediante la utilización de partículas de látex recubiertas de anticuerpos específicos anti grupo A, B, C, D, F y G (*Oxoid Streptococcal Grouping Kit*, USA).

Los resultados fueron tabulados y se construyó la tabla de contingencia para el aislamiento de estreptococos betahemolíticos y la condición de cepillado por parte de los individuos, adicionalmente se construyó la tabla de contingencia para el aislamiento de estreptococos y la incubación o no en caldo Todd-Hewitt previa siembra en agar sangre. Las proporciones de aislamiento entre los individuos que se cepillaron los dientes y los que no lo hicieron se compararon utilizando la prueba de diferencia de proporciones y se construyó el intervalo al 95% de confianza para tal diferencia. Para comparar el grado

de concordancia entre la frecuencia de aislamiento para la siembra directa del hisopo en agar sangre de carnero al 5% y la previa incubación del hisopo a la siembra en agar sangre utilizando el medio Todd-Hewitt, se calculó el coeficiente κ (*kappa*) de Cohen y se construyó el correspondiente intervalo al 95% de confianza. Se utilizó el nivel de significación de 5%. Los resultados fueron tabulados utilizando el programa MS Excel 2010 y procesados con el programa estadístico Statxact 9.0 bajo ambiente Windows.

RESULTADOS

En la Figura 1, se presenta la distribución de los estreptococos betahemolíticos aislados en los individuos de las diferentes instituciones educativas del municipio “Francisco Linares Alcántara”, donde se observó predominio de estreptococos betahemolíticos del grupo G (EBHGG, $n = 8$; 42,0%), seguido del grupo B (EBHGB, $n = 5$; 26,0%).

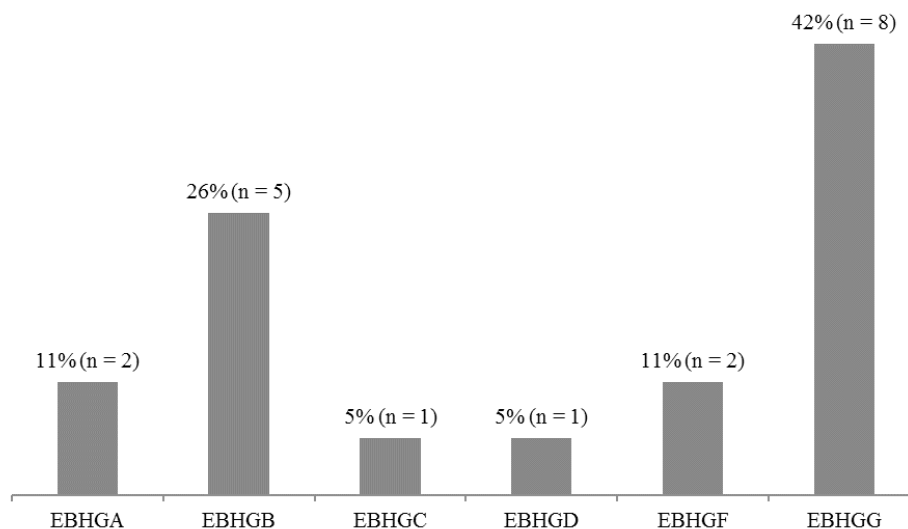


Figura 1. Distribución de estreptococos betahemolíticos aislados en individuos del municipio Francisco Linares Alcántara, estado Aragua, 2012.

Con la finalidad de determinar si el cepillado o no de dientes como tratamiento previo a la realización del exudado faríngeo puede influir en el aislamiento de los estreptococos betahemolíticos, se procedió a comparar la proporción de cultivos positivos obtenidos en ambas situaciones. En la Tabla 1 se puede observar que existen diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,0011$) entre la proporción de cultivos positivos cuando se procede al cepillado de dientes ($n = 2/99$; 2,0%), en comparación con la obtenida al no efectuar el cepillado de los dientes ($n = 17/104$; 16,3%) previo a la realización del exudado faríngeo.

Los resultados obtenidos al comparar la siembra directa con el hisopo en agar sangre de carnero con la previa incubación a la siembra utilizando el caldo Todd-Hewitt, se muestran en la Tabla 2. Un total de 186 datos resultaron concordantes (91,6%) y 17 (8,4%) discordantes. Los análisis estadísticos efectuados revelaron una fuerza de concordancia pobre ($\kappa = 0,16943$) entre las técnicas empleadas para el procesamiento inicial de las muestras de exudado faríngeo y diferencias estadísticamente significativas entre el número de portadores de estreptococos betahemolíticos detectados con ambos procedimientos ($p = 0,02060$). Al analizar

los porcentajes de recuperación utilizando el caldo Todd-Hewitt como método de preincubación antes de la siembra en agar sangre de carnero al 5%, se pueden observar los siguientes resultados: entre los individuos que se cepillaron los dientes el porcentaje de recuperación

correspondió a 2,0% (2/99), entre los individuos que no se cepillaron 15,4% (16/104) y si se analiza el estudio completo el porcentaje de recuperación fue de 8,9% (18/203).

Tabla 1. Proporción de cultivos de estreptococos betahemolíticos previo cepillado o no de los dientes antes del exudado faríngeo.

| Cultivo de estreptococos betahemolíticos | Procedimiento previo al exudado faríngeo | | Total |
|--|--|--------------|-------------|
| | Cepillado | No cepillado | |
| Positivo | 2 (2%) | 17 (16,3%) | 19 (9,4%) |
| Negativo | 97 (98%) | 87 (83,7%) | 184 (90,6%) |
| Total | 99 | 104 | 203 |

Prueba de diferencia de proporciones

$$p_{\text{no cepillado}} = 0,1635$$

$$p_{\text{cepillado}} = 0,0202$$

$$P_{\text{no cepillado}} - P_{\text{cepillado}} = 0,1433$$

$$p = 0,0011$$

$$IC(p_{\text{no cepillado}} - p_{\text{cepillado}}) = (0,06698; 0,21954)$$

Tabla 2. Proporción de cultivos de estreptococos betahemolíticos previo cepillado o no de los dientes antes del exudado faríngeo.

| Incubación previa del hisopo en caldo Todd-Hewitt | Siembra directa del hisopo en agar sangre | | Total |
|---|---|----------|-------|
| | Positiva | Negativa | |
| Positiva | 2 | 16 | 18 |
| Negativa | 1 | 184 | 185 |
| Total | 3 | 200 | 203 |

Coefficiente de concordancia κ de Cohen

$$\kappa = 0,16943$$

$$p = 0,0206$$

$$IC(\kappa) = (-0,04760; 0,38647)$$

DISCUSIÓN

Entre los estreptococos betahemolíticos más frecuentes se puede mencionar a los estreptococos de los grupos A, B, C, F y G, siendo el grupo A o *Streptococcus pyogenes* el más investigado, por ser el responsable principal de los cuadros de faringitis y secuelas no supurativas que afectan al humano. Aunque actualmente han adquirido importancia al demostrarse que igualmente pueden estar implicados en casos de faringitis (Martin *et al.* 2004, Shah *et al.* 2007, Chávez *et al.* 2008, Bramhachari *et al.* 2010, Al-Charrakh *et al.* 2011, Tartof *et al.* 2011, Harrington y Clarridge 2013, Sanz-Rojas *et al.* 2013).

El estreptococo del grupo G representó el grupo más frecuentemente aislado en esta investigación. Este microorganismo fue considerado por muchos años como

no patógeno o flora normal de los humanos, sin embargo, ya se ha implicado en la producción de faringitis en niños y adultos como también en otros procesos infecciosos de piel y tejidos blandos, lo que le da importancia desde el punto de vista clínico (Sylvetsky *et al.* 2002, Bramhachari *et al.* 2010). Otras investigaciones reflejan porcentajes diferentes, así se tiene que Devi *et al.* (2011), lo reportan en 19,81%, mientras que Miranda (2012) lo hace en 17,64%. La proporción de portadores asintomáticos por estreptococos betahemolíticos cambia según el país, estación del año, humedad, ambiente y edad. Estudios realizados en diversos países indican una baja prevalencia del grupo A y una alta prevalencia de los grupos C y G en países tropicales y subtropicales, siendo esta la posible razón por la que en esta investigación se observa este predominio del grupo G. En un estudio realizado en Venezuela, en el que participaron escolares asintomáticos de dos instituciones del estado Zulia, se

reportó una frecuencia de 19,85% (26/131) para el grupo G, difiriendo del porcentaje (42,0%) encontrado en esta investigación (González-Lama *et al.* 2000, Romero *et al.* 2002, Giannelli y Posse 2007).

Streptococcus agalactiae o EBHGB fue el segundo grupo de estreptococo beta hemolítico más frecuentemente aislado (26,0%). Actualmente, la infección ocasionada por este estreptococo es considerada una enfermedad emergente entre la población adulta no gestante. Aparece, con mayor frecuencia entre personas con una enfermedad subyacente y comorbilidad manifiesta como la diabetes mellitus, situaciones de inmunodepresión (neoplasias o inmunodeficiencias, incluida la infección por VIH), la insuficiencia renal crónica o la enfermedad hepática crónica; también se ha descrito después de algunos procedimientos neuro-quirúrgicos o tras un traumatismo craneoencefálico. El espectro clínico de la infección por EBHGB incluye la afectación de la piel y los tejidos blandos, el tracto genito-urinario o respiratorio, incluida la neumonía, el sistema nervioso central, el endocardio y la bacteriemia primaria. En un estudio realizado en escolares de 4 a 15 años de las Palmas de Gran Canaria (España), se encontró 11,0% de EBHGB. En otro estudio efectuado en escolares de 12 a 18 años de este mismo país (San Fernando, Cádiz), se observó una frecuencia de 5,88% para este mismo estreptococo. En Venezuela, en un trabajo llevado a cabo en portadores nasofaríngeos de bacterias potencialmente patógenas en pre-escolares (menores de 6 años de edad) de Maracaibo, se encontró en orofaringe 12,5% de EBHGB, todos estos porcentajes diferentes a los encontrados en la presente investigación. En cambio, en otro trabajo realizado en portadores asintomáticos (individuos de 7 a 12 años) de dos instituciones escolares del estado Zulia, se evidenció 28,24%, siendo este porcentaje similar al encontrado en este estudio (Castellano-González *et al.* 2002, González-Lama *et al.* 2000, Chaiwarith *et al.* 2011, García 2012).

En esta investigación se determinó si el cepillado y no cepillado de los dientes como condición previa a la realización del exudado faríngeo influyó en el aislamiento de los estreptococos beta hemolíticos. Los investigadores de esta publicación, después de una búsqueda exhaustiva en diferentes bases de datos de publicaciones científicas no encontraron estudios anteriores a éste donde comparen tales procedimientos. En el presente trabajo, cuando se contrastaron las proporciones de cultivos positivos en ambas situaciones se encontró que fue mayor la proporción de aislamiento en individuos no cepillados, lo que significa que el no cepillado de los dientes antes de realizar el exudado

faríngeo constituye una buena recomendación para una mayor recuperación de estreptococos beta hemolíticos. Esto puede deberse a que al cepillarse los dientes se utilizan dentífricos que contienen agentes bactericidas y éstos pueden eliminar temporalmente los estreptococos que pudieran encontrarse en la cavidad faríngea.

Al comparar la siembra directa con el hisopo en agar sangre de carnero con la previa incubación a la siembra utilizando el caldo Todd-Hewitt, se evidenció un índice *Kappa* de Cohen de 0,16943, interpretándose como una concordancia pobre entre ambos métodos (López y Pita 1999), lo que indica que 16 resultados de aislamiento por el método con caldo Todd-Hewitt (Tabla 2) no fueron detectados por la siembra directa con el hisopo en agar sangre, por lo que la incubación previa a la siembra con el medio Todd-Hewitt resultó ser más eficiente al momento de aislar estos microorganismos. En un estudio anterior a éste se evidenció que la incubación previa en caldo Todd-Hewitt incrementó la recuperación del estreptococo del grupo A de exudados faríngeos, entre 11,6% a 24,0% en comparación con la recuperación de este microorganismo utilizando la siembra directa del hisopo en agar selectivo de estreptococo y agar tripticasa soya al 5% con sangre de carnero, respectivamente (Harbeck *et al.* 1993). En otra investigación se demostró un incremento de 17,9% en la recuperación de estreptococo del grupo A utilizando el caldo Todd-Hewitt en comparación con la recuperación de la siembra directa del hisopo en agar estreptococo SXT (Daly *et al.* 1994). Estos resultados difieren del presente estudio, en el que se recuperó 2,0%, 15,38% y 9,0%, dependiendo del grupo analizado, individuos que se cepillaron los dientes, individuos que no se cepillaron los dientes y total de individuos que participaron en el estudio, respectivamente. En una investigación más reciente, Ding y Wang (2011) primero compararon dos métodos de tamizaje rápido (Hibridación Fluorescente *in situ* y el Ensayo Inmuno cromatográfico) para la detección de *S. pyogenes* en muestras de exudados faríngeos, provenientes de 630 pacientes (edades entre los 6 meses y 14 años) con signos y síntomas de infección aguda del tracto respiratorio superior. Después de analizar los datos discordantes calcularon la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo de ambos métodos. Para confirmar los datos discordantes, los investigadores utilizaron la preincubación en caldo Todd-Hewitt de las muestras de hisopado faríngeo correspondiente a los datos discordantes mencionados antes de la siembra en agar sangre de carnero al 5%. La utilización de la preincubación de las muestras de exudado faríngeo correspondientes a los datos discordantes, demuestra la ventaja del método de preincubación en

caldo Todd-Hewitt para una mayor recuperación de *S. pyogenes*. Cuando se analizan los componentes del caldo se observa que la peptona y la infusión de corazón le proporcionan al medio nutrientes (nitrógeno, vitaminas y aminoácidos) necesarios para el desarrollo de estas bacterias consideradas de difícil crecimiento, también contiene dextrosa, azúcar importante como fuente de energía. Los fosfatos y el carbonato de sodio cumplen un papel importante al mantener el pH del medio, evitando la inactivación de las hemolisinas (DIBICO s/f).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En esta investigación los individuos que no se cepillaron los dientes antes de la realización del exudado faríngeo se les aisló más frecuentemente estreptococos beta-hemolíticos en comparación con los individuos que se cepillaron los dientes. La incubación previa del hisopo correspondiente a la muestra del exudado faríngeo en caldo Todd-Hewitt resultó ser más eficiente al momento de aislar estreptococos beta-hemolíticos en comparación con la siembra directa del hisopo en agar sangre de carnero al 5%. Debido a los resultados encontrados en la presente investigación se sugiere difundir en los diferentes centros de salud la recomendación de no cepillarse los dientes antes de realizar el exudado faríngeo e incubar el hisopo en caldo Todd-Hewitt durante 4 horas a 35°C antes de la siembra en las placas de agar sangre.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a los escolares, adolescentes y representantes, así como al personal docente de las diferentes instituciones académicas que colaboraron e hicieron posible el desarrollo de esta investigación. Este trabajo fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo (CDCH-UC), Proyectos: CDCH-UC N° 2012-003 y PI-M 173-11.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-CHARRAKH A, AL-KHAFAJI J, AL-RUBAYE R. 2011. Prevalence of β -hemolytic groups C and F streptococci in patients with acute pharyngitis. *N. Am. J. Med. Sci.* 3(3):129-136.
- BRAMHACHARI P, KAUL S, McMILLAN D, KARMAKAR M, SRIPRAKASH K. 2010. Disease burden due to *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (group G and C streptococcus) is higher than due to *Streptococcus pyogenes* among Mumbai school children. *J. Med. Microbiol.* 59(Pt2):220-223.
- CASTELLANO-GONZÁLEZ M, PEROZO-MENA A, GINESTRE-PÉREZ M, ÁVILA-ROO Y. 2000. Portadores nasofaríngeos de bacterias potencialmente patógenas en pre-escolares de Maracaibo (2000-2001). *Kasmera.* 30(1):17-32.
- CHAIWARITH R, JULLAKET W, BUNCHOO M, NUNTACHIT N, SIRISANTHANA T, SUPPARATPINYO K. 2011. *Streptococcus agalactiae* in adults at Chiang Mai University Hospital: a retrospective study. *BMC Infect. Dis.* 11:149.1.
- CHÁVEZ M, REQUELME E, NATIVIDAD E, LUJÁN M, OTINIANO N, BENITES S, ROBLES H. 2008. Frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana de *Streptococcus* beta-hemolítico del grupo B aislados en pacientes con faringitis aguda de dos hospitales de la ciudad de Chepé, Perú. *Rev. Med. Vallejiana.* 5(2):100-107.
- CUNNINGHAM M. 2008. Pathogenesis of group A streptococcal infections and their sequelae. *Adv. Exp. Med. Biol.* 609:29-42.
- DALY JA, KORGENSKI EK, MUNSON AC, LLAUSAS-MAGANA E. 1994. Optical immunoassay for streptococcal pharyngitis: evaluation of accuracy with routine and mucoid strains associated with acute rheumatic fever outbreak in the intermountain area of the United States. *J. Clin. Microbiol.* 32(2):531-532.
- DEVI U, BORAH P, MAHANTA J. 2011. The prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of beta-hemolytic streptococci colonizing the throats of schoolchildren in Assam, India. *J. Infect. Dev. Ctries.* 5(11):804-808.
- DIBICO. s/f. Caldo Todd Hewitt. Disponible en línea en: www.dibico.com/fichast/1045.pdf (Acceso 12.11.2011).
- DING JY, WANG P. 2011. Methods for the rapid screening of group A streptococci: fluorescent in situ hybridization versus immunochromatography. *Med. Princ. Pract.* 20(6):504-508.
- GARCÍA M. 2012. Comportamiento de los estreptococos beta-hemolíticos en escolares. *Sanid. Mil.* 68(1):17-21.

- GIANNELLI S, POSSE G. 2007. Prevalencia de portación asintomática del estreptococo β hemolítico grupo A (*Streptococcus pyogenes*). Arch. Argent. Pediatr. 105(3):221-224.
- GONZÁLEZ-LAMA Z, GONZÁLEZ J, LUPIOLA P, TEJEDOR M. 2000. Portadores de estreptococos beta-hemolíticos de los grupos A, B y C en escolares de Las Palmas. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 18(16):271-273.
- HAHN R, KNOX L, FORMAN T. 2005. Evaluation of poststreptococcal illness. Am. Fam. Physician. 71(10):1949-1954.
- HARBECK RJ, TEAGUE J, CROSSEN GR, MAUL DM, CHILDERS PL. 1993. Novel, rapid optical immunoassay technique for detection of group A streptococci from pharyngeal specimens: comparison with standard culture methods. J. Clin. Microbiol. 31(4):839-844.
- HARRINGTON AT, CLARRIDGE JE. 2013. Impact of identification of *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis* from throat cultures in an adult population. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 76(1):20-23.
- HENNINGHAM A, BARNETT T, MAAMARY P, WALKER M. 2012. Pathogenesis of group A streptococcal infections. Discov. Med. 13(72):329-342.
- KUMAR RK, TANDON R. 2013. Rheumatic fever & rheumatic heart disease: the last 50 years. Indian J. Med. Res. 137(4):643-658.
- LINDBAEK M, HOIBY E, LERMARK G, STEINSHOLT I, HJORTDAHL P. 2005. Clinical symptoms and signs in sore throat patients with large colony variante β -haemolytic streptococci groups C or G versus group A. J. Gen. Pract. 55(517): 615-619.
- LÓPEZ I, PITA S. 1999. Medidas de concordancia: El índice de Kappa. Cad. Aten. Primaria. 6:169-173.
- MARTIN J, GREEN M, BARBADORA K, WALD E. 2004. Group A streptococci among school-aged children: clinical characteristics and the carrier state. Pediatrics. 114(5):1212-1219.
- MATAS L, MÉNDEZ M, RODRIGO C, AUSINA R. 2008. Diagnóstico de las faringitis estreptocócicas. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 26(Supl 13):14-18.
- MIRANDA M. 2012. Comportamiento de los estreptococos beta-hemolíticos en escolares. Sanid. Mil. 68(1):17-21.
- PÉREZ C, BORDA A, KATIME A, RESTREPO L. 2008. Interpretación clínica de anticuerpos anti-estreptococo en fiebre reumática. Rev. Panam. Infectol. 10(3):36-42.
- ROBERTS AL, CONNOLLY KL, KIRSE DJ, EVANS AK, POEHLING KA, PETERS TR, REID SD. 2012. Detection of group A *Streptococcus* in tonsils from pediatric patients reveals high rate of asymptomatic streptococcal carriage. BMC Pediatr. 12:3. doi: 10.1186/1471-2431-12-3.
- ROMERO S, GINESTRE M, RINCÓN G, HARRIS B, MARTÍNEZ A. 2002. Streptococcus beta-hemolíticos en la orofaringe de escolares asintomáticos de dos instituciones del estado Zulia. Rev. Soc. Venez. Microbiol. 22(1):6-11.
- SAMSON YW, KWORK-YUNG Y. 2012. *Streptococcus pyogenes* and re-emergence of scarlet fever as a public health problem. EMI. Disponible en línea en: <http://www.nature.com/emi/journal/v1/n7/pdf/emi20129a.pdf>. (Acceso 01.05.2014).
- SANZ-ROJAS P, CABEZA-OSORIO L, HERMOSA C, SERRANO-HERANZ R. 2013. Acute meningitis by *Streptococcus agalactiae* in a immunocompetent male. Rev. Esp. Quimioter. 26(1):78-79.
- SHAH M, CENTOR R, JENNING M. 2007. Severe acute pharyngitis caused by group C streptococcus. J. Gen. Intern. Med. 22(2):272-274.
- SYLVETSKY N, RAVEH D, SCHLESINGER Y, RUDENSKY B, YINNON A. 2002. Bacteremia due to beta-hemolytic streptococcus group G: increasing incidence and clinical characteristics of patients. Am. J. Med. 112(8):622-626.
- TARTOF S, FARRIMOND F, DE MATOS J, REIS J, TRINDADE R, ANDRADE A. 2011. Inverse association between Lancefield group G *Streptococcus* colonization and sore throat in slum and non-slum setting in Brazil. J. Clin. Microbiol. 49(1):409-412.
- VALENCIA I, CRUZ B, MORALES R, CALLISAYA J, CHOQUE

- M. 2010. Evaluación de medios de cultivos para el aislamiento de *Streptococcus pyogenes* en pacientes con diagnóstico clínico de faringoagminalitis. *Biofarbo*. 18(1):62-68.
- serbi.ula.ve/serbiula/librose/pva/Libros%20de%20PVA%20para%20libro%20digital/Manual%20de%20Bacteriologia.pdf. (Acceso 14.04.2012).
- VELASCO J, ARAQUE M, ARAUJO E, LONGA A, NIEVES B, RAMÍREZ A, SÁNCHEZ K, VELASCO E. 2011. Manual Práctico de Bacteriología Clínica. Venezuela: CODEPRE. Disponible en línea en: <http://www.>
- WINN W, ALLEN S, JANDA W, KONEMAN E, PROCOP G, SCHERECKENBERGER P, WOODS G. 2008. Koneman Diagnóstico microbiológico. 6ª ed, Editorial Médica Panamericana, Argentina, pp. 640.