

PREVALENCIA DE *Streptococcus agalactiae* EN EMBARAZADAS SEGÚN EL METODO DE AISLAMIENTO UTILIZADO

AUTORES: Grasso AC*, Fernández PL**, Cernotti LN***

***Bioquímica**

****Dra. en Biomedicina – Cs. de la Salud, Mgter. en Gerencia y Administración de Servicios de Salud, Bioquímica/Farmacéutica especialista en Microbiología con orientación en Bacteriología a/c del Área Microbiología**

***** Técnico de Laboratorio Clínico e Histológico**

INSTITUCIÓN: Hospital Materno Neonatal

CORRESPONDENCIA: Grasso Ana Cecilia; Bv. Illia 654 10° “E” – Córdoba, Argentina

MAIL: cegrasso14@live.com.ar

TELÉFONOS: 0351-156011220 – 0351-4221473

RESUMEN

La detección de *Streptococcus agalactiae* (SGB) en la vagina y/o recto de las mujeres embarazadas y la administración de profilaxis antimicrobiana intraparto en las colonizadas, es el método recomendado para prevenir la infección neonatal precoz por este microorganismo. En consecuencia, es importante seleccionar los medios de cultivos adecuados para su detección. El objetivo fue comparar la prevalencia de colonización de SGB según los métodos utilizados para su detección en embarazadas. Se realizó un estudio de tipo observacional, retrospectivo y de corte transversal. Para ello se tomaron hisopados vagino-ano-rectales de todas las embarazadas, que asistieron a control entre las 35-37 semanas de gestación (n=18589) y se las estratifico, de acuerdo al método utilizado en diferentes periodos, en tres grupos según el antibiótico usado como suplemento del Caldo *Tood Hewitt* (CTH) y de los medios sólidos para su posterior sub-cultivo; **Grupo A** (Año: 2003-2005, n=3382): CTH con Gentamicina (8 µg/ml) y Agar Sangre de Carnero (ASC); **Grupo B** (Año: 2006-2008, n=3888): CTH con Gentamicina (8 µg/ml) + Acido nalidíxico (15 µg/ml) y ASC; y **Grupo C** (Año: 2009-2014, n=11319): CTH con Colistin (10 µg/ml) + Acido nalidíxico (15 µg/ml) y *ChormID StreptoB* (CRO) (bioMérieux). De acuerdo a los métodos empleados se pudo observar diferencias estadísticamente significativas entre las prevalencias de los grupos **A** (1.36%) vs **B** (10.83%) ($p < 0,006$) y **A** (1.36%) vs **C** (11.20%) ($p < 0,0003$), no siendo así entre los grupos **B** (10.83%) vs **C** (11.20%). Podemos concluir que la utilización del CTH suplementado con cualquier combinación de antibióticos y su posterior siembra, ya sea en ASC o CRO, son métodos confiables, destacando que el subcultivo en CRO mejora la visualización de una sola colonia de SGB, sobre todo en casos que se presente acompañado por un alto inoculo de flora polimicrobiana.

Palabras clave: *Streptococcus agalactiae*, antibióticos, medio Agar Sangre de Carnero, medio *ChormID Strepto B*, embarazo.

INTRODUCCION

La detección de *Streptococcus agalactiae* (*Streptococcus* β -hemolítico Grupo B o SGB) en la vagina y/o recto de las mujeres embarazadas y la administración de profilaxis antibiótica intraparto en las portadoras es actualmente el método más eficaz y recomendado para prevenir la infección neonatal precoz (1-4).

Algunos estudios han documentado que los cultivos solo de vagina o de cérvix, son pocos sensibles para la detección del SGB. Hay evidencias de que los cultivos que provienen de hisopados del tercio inferior de la vagina y luego del ano-recto tienen alta sensibilidad para la detección de SGB, incrementándose su detección en 25% sobre el cultivo vaginal solo (5,6).

La elección del medio de cultivo para la detección del SGB puede influir de forma significativa en la eficacia de las medidas preventivas, ya que son diversos los medios de cultivos que se utilizan para este fin (7). Algunos estudios refieren que la sensibilidad del cultivo aumenta cuando se utiliza un caldo enriquecido selectivo como método de detección primaria (8). Existen varias fórmulas de caldos enriquecidos selectivos, pero el más estudiado y utilizado es el caldo *Todd Hewitt* con Colistin (10 μ g/ml) y Acido nalidíxico (15 μ g/ml), conocido como caldo LIM (9-12).

Diversos trabajos señalan que el uso de este tipo de caldo incrementa hasta un 50% la detección del SGB en mujeres colonizadas cuando es comparado con el cultivo solo en placa directa (9,12,13). Aunque, *Rauen y col* (14), describieron que el caldo enriquecido no selectivo (CTH) posee una sensibilidad comparable al caldo enriquecido selectivo (LIM) en la detección del SGB en mujeres embarazadas.

El Centro de Prevención y Control de Enfermedades (CDC) actualizó sus lineamientos para la prevención de enfermedad perinatal por SGB; recomendando realizar cultivo vaginal y rectal a todas las embarazadas entre las 35 y 37 SG, administrando profilaxis intraparto a todas las portadoras; así también aquellas que presenten factores de riesgo como amenaza de parto prematuro (APP), rotura prematura de membranas (REM) o no se hayan realizado el cultivo (15).

Por lo antes dicho motiva a las autoras a determinar la prevalencia de SGB en embarazadas entre las 35-37 SG, según tres métodos utilizados para su pesquisa en el Hospital Materno Neonatal "Ministro Dr. Ramón Carrillo" dependiente del Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba.

MATERIAL Y METODOS

Tipo de Estudio

El Presente estudio es de tipo observacional, retrospectivo y de corte transversal.

Universo y Muestra

El universo fue conformado por el total de embarazadas que concurren a control al Servicio de Toco-ginecología durante el período comprendido entre enero de 2003 a diciembre de 2014, de las cuales se tomaron estadísticas básicas obtenidas de fuentes secundarias protocolizando el estudio de los casos positivos según metodología utilizada.

Unidad de Observación:

La unidad de observación fue la embarazada entre la 35-37 semana de gestación (SG).

Factores de inclusión: todas las embarazadas sin distinción de edad, ni nacionalidad que concurren a control entre la semana 35 a 37 de gestación.

Factores de exclusión: todas aquellas embarazadas que presentaron algún factor de riesgo como por ej: infección del tracto urinario (ITU), REM, APP, fiebre, etc.

Procedimiento de diagnóstico microbiológico

- **Tipo de muestra:** Hisopado anal/vaginal: las muestras fueron obtenidas utilizando un solo hisopo de algodón estéril, según las recomendaciones del CDC (1,4,15) introduciéndolo en primer lugar en el tercio externo de la vagina (sin espéculo y sin tacto vaginal previo) y luego por la zona ano-rectal (a través del esfínter anal). Las mismas se enviaron inmediatamente al laboratorio de Microbiología para su procesamiento inmediato por lo cual no se emplearon medios de transporte.
- **Medios de cultivo:** se utilizó un medio de enriquecimiento selectivo, caldo *Todd Hewitt* suplementado con antibióticos (capaz de inhibir el desarrollo de bacilos Gram negativos y Gram positivos, permitiendo el desarrollo de los cocos Gram positivos, entre ellos el SGB). En una segunda instancia se realizó sub-cultivo en medio sólido:
 - a) Agar tripticosa soja con 5% de sangre desfibrilada de carnero (ASC)
 - b) *ChromID Strepto B* (CRO) (bioMérieux®).

Todos los hisopos se colocaron en el caldo de enriquecimiento, luego de 24 h de incubación se realizaron sub-cultivos en ASC y CRO, en atmósfera con 5% de dióxido de carbono a 35-37 °C. Las placas se observaron a las 24 h y de ser negativas se las incubó un día más.

Según el antibiótico utilizado como suplemento y el medio sólido de cultivo, al total de la población estudiada se la estratificó en tres grupos:

Grupo A: CTH suplementado con Gentamicina (Gen) (8 µg/ml) y ASC;

Grupo B: CTH suplementado con Gen (8 µg/ml) + Acido Nalidíxico (NAL) (15 µg/ml) y ASC;

Grupo C: CTH suplementado con Colistin (Col) (10 µg/ml) + NAL (15 µg/ml) y agar CRO.

- **Tipificación:** la identificación de colonias sospechosas que desarrollaron en ASC se basó en pruebas convencionales: tipo de hemólisis, tinción de Gram, prueba de catalasa, prueba de CAMP, hidrólisis del hipurato (16). Las cepas identificadas presumiblemente como SGB, que desarrollaron en el medio cromogénico, se confirmaron mediante la detección del antígeno de superficie por aglutinación de partículas de látex (*SLIDEX® Strepto Plus* bioMérieux).

Elección de las técnicas de observación

Se utilizó como fuente de recolección secundaria, datos de las estadísticas vitales del Servicio de Toco-Ginecología/Sección Microbiología del Hospital Materno Neonatal "Dr. Ramón Carrillo". Para los casos especiales se revisaron todas las historias clínicas de las pacientes incluidas en el estudio. Para la recolección de los datos se confeccionó una Matriz donde se vertieron los mismos para su procesamiento.

Análisis e interpretación de los resultados y estadísticos utilizados

El análisis de los datos de las variables categóricas se realizó analizando las frecuencias observadas, se describieron en tablas de contingencia. La distribución de frecuencias se presentó en gráficas de barras. Para las variables mensurables se utilizaron medidas de posición. Para el análisis de las variables categóricas se utilizó el estadístico chi cuadrado (X^2). Se utilizó la prueba Kolmogorov-Smirnov (K-S) a fin de constatar la distribución normal de las variables cuantitativas. El procesamiento de los datos se realizó con el paquete estadístico *SPSS versión 21.0*. Se consideró un $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

El total de pacientes atendidas en el período enero de 2003 a diciembre de 2014 fue de 18589 con una media y mediana anual de 1495 y 1490 respectivamente. La edad de las pacientes estuvo comprendida en un rango de 13 a 47 años, con una media de 26 años y una mediana de 25 años; y la edad gestacional entre las 35 y 37 SG con una media y mediana de 36 S.

La transición entre el 2008-2009 determinó un punto de inflexión donde se produjo un incremento de muestras estadísticamente significativo ($p < 0,05$) respecto a años anteriores (**Gráfico I**).

Según el método diagnóstico utilizado en el aislamiento de SGB, al total de la población estudiada ($n=18589$) se la estratificó en tres grupos: Grupo A ($n=3382$), Grupo B ($n=3888$) y Grupo C ($n=11319$), donde se establecieron las respectivas prevalencias anuales, no observándose cambios estadísticamente significativos entre los años analizados dentro de cada grupo ($p > 0,05$) (**Tabla N° 1, 2 y 3**).

Al realizar el análisis comparativo entre las prevalencias se pudo constatar que hubo diferencias estadísticamente significativas entre el grupo A vs B ($p < 0,006$) y A vs C ($p < 0,0003$). Por el contrario, al comparar la prevalencia entre B vs C no demostraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) (**Tabla N° 4**).

Grafico I: “Distribución del total de muestras por año”

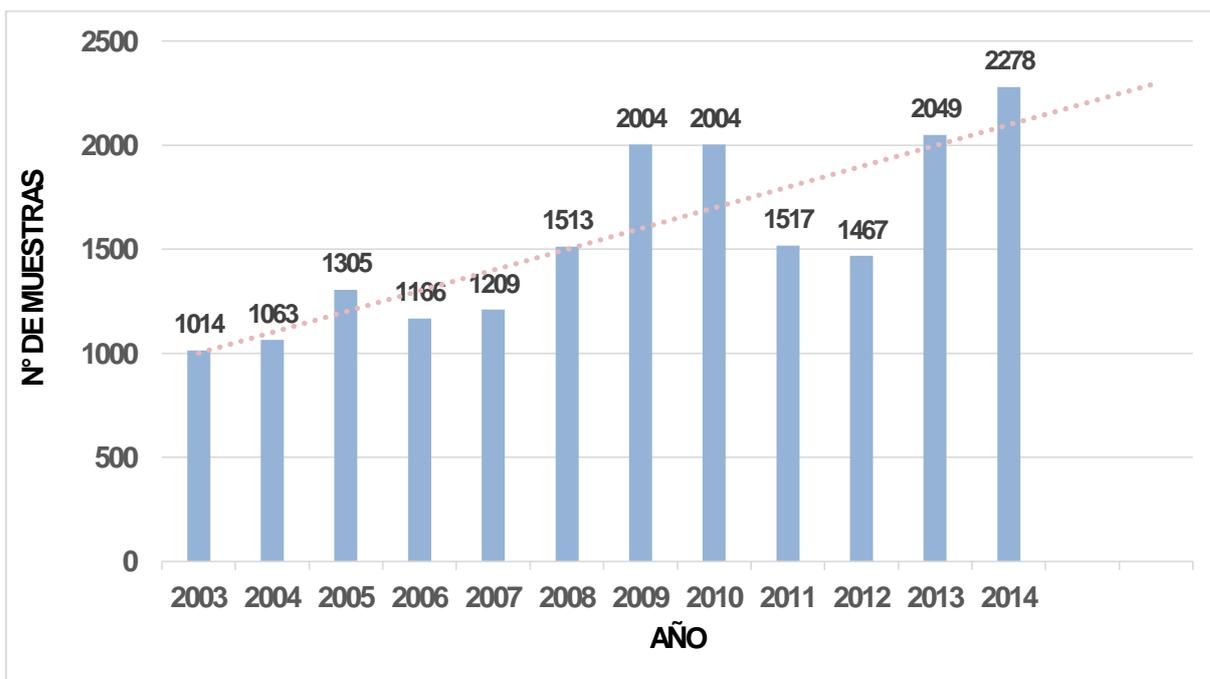


Tabla N° 1: “Distribución anual de la Prevalencia del SGB-Grupo A”

AÑO	N° total de muestra	Positivos	Prevalencia %
2003	1014	13	1,28
2004	1063	16	1,51
2005	1305	17	1,30
TOTAL	3382	46	1,36

Tabla N° 2: “Distribución anual de la Prevalencia del SGB - Grupo B”

AÑO	N° total de muestra	Positivos	Prevalencia %
2006	1166	133	11,41
2007	1209	136	11,25
2008	1513	152	10,04
TOTAL	3888	421	10,83

Tabla N° 3: “Distribución anual de la Prevalencia del SGB - Grupo C”

AÑO	N° total de muestra	Positivos	Prevalencia %
2009	2004	233	11,63
2010	2004	270	13,47
2011	1517	221	14,57
2012	1467	158	10,80
2013	2049	164	8,00
2014	2278	222	9,74
TOTAL	11319	1268	11,20

Tabla N° 4: “Distribución de Prevalencia según el método utilizado (Grupo A-B-C).”

	N° DE MUESTRAS	Positivos	Prevalencia (%)
GRUPO A	3382	46	1,36
GRUPO B	3888	421	10,83
GRUPO C	11319	1268	11,20

DISCUSIÓN

La realización de la pesquisa de SGB en embarazadas entre la 35–37 SG es de fundamental importancia debido a las complicaciones gineco-obstétricas y neonatales que este microorganismo puede ocasionar. La colonización vaginal se produce a partir del recto y luego migra al cérvix por vía ascendente pudiendo provocar rotura prematura de membrana e inicio prematuro del parto (17).

Por otro lado, en el recién nacido la colonización se produce durante el momento del parto (Tasa de transmisión vertical del 50%) o en el útero por vía ascendente. Esto posiciona al SGB como el principal agente etiológico de la sepsis neonatal precoz, con una frecuencia entre 1-4/1000 nacidos vivos y una letalidad entre el 5-20% (18,19).

En el hospital Materno Neonatal “Ministro Dr. Ramón Carrillo” dependiente del Ministerio de Salud de la provincia de Córdoba, en el 2003 se protocolizó la pesquisa para la búsqueda SGB en embarazadas, pero al no existir una política de estado hubo dificultades en la adhesión por parte de los Toco-ginecólogos a realizar el mismo a todas las embarazadas que asistían a la institución. Durante el 2008, en Argentina se promulgó la Ley Nacional N° 26.369 (20), que incorpora con carácter obligatorio la pesquisa de SGB como la práctica rutinaria de control y prevención, a todas las embarazadas entre las 35-37 SG con o sin factores de riesgo. Por esta razón en el 2009 se produjo un incremento estadísticamente significativo ($p < 0,05$) del número de muestras respecto a años anteriores.

La prevalencia de SGB en las embarazadas varía según: a) La población en estudio (región geográfica, factores étnicos y sociales, edad), b) Los medios y técnicas de cultivo y c) El sitio de toma la muestra (hisopado vaginal y/o ano-rectal) **(21-26)**. Según literatura internacional, alrededor del 20% (rango de 10-40%) de las embarazadas son portadoras del SGB **(26-31)**. En Argentina, algunos trabajos muestran una prevalencia más baja (5-18%) **(25,29-33)**. En el presente estudio se pudo observar que, en el primer grupo (A), la prevalencia estuvo muy por debajo de la media nacional, contrariamente a lo visto en los otros dos grupos (B-C), donde la prevalencia fue comparable con los reportes nacionales.

El CDC propone la utilización de una variedad de medios líquidos enriquecidos selectivos para maximizar la recuperación del SGB **(34)**. En el presente artículo se utilizó el caldo *Todd Hewitt* con diferentes combinaciones de antibióticos el cual luego de 24 h de incubación fue sub-cultivado en ASC o CRO, respectivamente según se trate del grupo A, B o C. Se observó que el uso de un solo antibiótico (Gen) y ASC (Grupo A) no fue suficiente para inhibir la flora acompañante, dificultando la recuperación en casos de inóculos bajos. Por otro lado, cuando se utilizó la combinación Gen+NAL y ASC (Grupo B) o Col+NAL y CRO (Grupo C) permitió una mayor inhibición de la flora acompañante mejorando la recuperación en casos de inóculos bajos de SGB.

En el mercado existen una gran variedad de medios de cultivo (sólidos y líquidos), una buena elección de los mismos, aumentan la probabilidad de recuperación del microorganismo en la población estudiada **(4,7,35-41)**. En este trabajo, tanto el uso de ASC o CRO mostraron similar efectividad en el aislamiento del SGB. Sin embargo, el sobre-crecimiento microbiano en las placas de ASC dificultó tanto la visualización como la recuperación del mismo. Por otro lado, el uso de CRO, permitió mejorar la observación de los cultivos positivos, aun en zonas de crecimiento polimicrobiano, por destacarse la coloración violeta-rosado por sobre las otras colonias. La capacidad de recuperación de ASC y CRO se vio limitada en los casos de cepas no hemolíticas (menos del 2%), vale aclarar que las mismas son menos virulentas (baja frecuencia de sepsis neonatal precoz) **(42-44)**.

Se estima que la utilización de estrategias de prevención basada en la realización de la pesquisa a todas las embarazadas entre las 35-37 SG con o sin factores de riesgo permite prevenir más del 90% de los casos de infección neonatal por SGB, mientras que las basadas únicamente por la presencia de factores de riesgo previenen solo el 50 a 60% de los casos. Por ello, es importante que los laboratorios realicen una revisión cuidadosa de los protocolos de detección de SGB y utilicen la metodología más sensible, eficiente y sustentable **(9,14)**.

Podemos concluir que la prevalencia del SGB en embarazadas varía según el método utilizado y que el uso del caldo *Todd Hewitt* suplementado con cualquier combinación de antibióticos antes mencionados (Gen+NAL o Col+NAL) y su posterior sub-cultivo en ASC o CRO son procedimientos confiables para su implementación en cualquier laboratorio de microbiología, destacando que el CRO mejora la visualización respecto a ASC y disminuye los tiempos de informe en al menos 24 h, dado que no son necesarias las pruebas bioquímicas.

BIBLIOGRAFIA

1. Center for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: A public Health perspective. MMWR 1996; 45 (N° RR-7): 1-24.
2. Sociedad Española de Obstetricia y Ginecología. Sociedad Española de Neonatología. Recomendaciones para la prevención de la infección perinatal por estreptococo del grupo B. Prog Obstet Ginecol 1998; 41: 431-5.
3. Andreu A, De la Rosa M, Cabero L. Justificación de una política de prevención de la enfermedad perinatal por estreptococo de grupo B (EGB). Recomendaciones. Enferm Infecc Microbiol Clin 1999; 17: 138-40.
4. Center for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. MMWR 2002; 51 (N° RR-11): 1-22.
5. Quinlan J, Hill A, Maxwell B, Boone S, Hoover F, Lense J. The necessity of both anorectal and vaginal cultures for group B *Streptococcus* screening during pregnancy. J Fam Pract 2000; 49: 447-8.
6. Yancey M, Duff P, Kurtzer T, Trentzen B, Kubilis p. Peripartum infection associated with vaginal group B streptococcal colonization. Obstet Gynecol 1994; 84: 816-9.
7. Bosch J, Martin R, Jiménez M. Estudio comparativo de tres medios de cultivos para detectar colonización por estreptococo del grupo B en la mujer embarazada. Enferm Infecc Microbiol Clin 2003; 21: 346-9.
8. Hillier S, Schuhat A. Preventing neonatal group B estreptococcal disease: The role of the clinical microbiology laboratory. Clin Microbiol Newslett 1997; 19: 113-5.
9. Elsayed S, Gregson D, Church D. Comparison of direct selective versus nonselective agar media plus LIM broth enrichment for determination of group B *Streptococcus* colonization status in pregnant women. Arch Pathol Lab Med 2003; 127: 718-20.
10. Fenton L, Harper M. Evaluation of colistin and nalidix acid in Todd Hewitt broth for selective isolation and group B Streptococci. J Clin Microbiol 1979; 9: 176-9.
11. Nguyen T, Gauthier D, Myles T, Nuwayhid B, Viana M, Schreckenberger P. Detection of group B *Streptococcus*: Comparison of an optical immunoassay wit direct plating broth-enhanced culture methods. J Matern Fetal Med 1998; 7: 172-6.
12. Orsello C, Dommermuth R. Maximizing neonatal early onset group B streptococcal disease prevention with universal culture screening at 35-37 weeks: a comparison of GBS detection rates between LIM broth and CAN culture media. Fam Med 2003; 35: 411-3.
13. Altaie S, Dryja D. Detection of group B *Streptococcus*. Comparison of solid and liquid culture media with and without selective antibiotics. Diagnostic Microbiol Infect Dis 1994; 18: 141-4.
14. Rauen N, Wesenberg E, Cartwright Ch. Comparison of selective and nonselective broth media for the detection of vaginal and ano-rectal colonization with group B *Streptococcus*. Diagnostic Microbiol Infect Dis 2005; 51: 9-12.
15. Center for Disease Control and Prevention CDC. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. MMWR 2010; 59: 1-36.
16. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W. Diagnóstico Microbiológico. Texto y Atlas a color. 5 ed. Buenos Aires (Argentina), Médica Panamericana; 1999.
17. Regan J, Chao S, James L. Premature rupture membranes, preterm delivery, and group B streptococcal colonization of mother. Am J Obstet Gynecol 1981; 141: 184-6.

18. Belmar C, Abarzúa F, Becker J, Guzmán A M, García P, Oyarzún E. Estudio de sensibilidad antimicrobiana de 183 cepas de *Streptococcus agalactiae* aisladas en región vagino perineal de embarazadas en el tercer trimestre. Rev Chil Obstet Ginecol 2002; 67: 106-9.
19. Center for Disease Control and Prevention. Adoption of hospital policies for prevention of perinatal group B streptococcal disease. United States, Morb Mortal Wkly Rep 1998- , 47: 665-70.
20. Ley Nacional N° 26.369. Publicada en el Boletín Oficial el 7 de mayo de 2008.
21. Cueto López. Estreptococo grupo B y embarazo. Inf Ter Sist Nac Salud 2005; 29: 133-137.
22. J. Bosch Mestres y cols. Sepsis neonatal precoz por *Streptococcus agalactiae*: Estudio de diez años (1985-1994) y eficacia de la profilaxis intraparto. An Esp Pediatr 1997; 46:272-276.
23. Andreu A, et al. Declive de la incidencia de la sepsis perinatal por Estreptococo del grupo B (Barcelona 1994-2001) Relación con las políticas profilácticas. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2003; 21(4): 174-9.
24. Ocampo-Torres M y col. Factores asociados a la colonización por *Streptococcus* del grupo B en mujeres embarazadas de Los Altos, Chiapas. Salud Pública de México. Vol. 42; no. 5; septiembre-octubre 2000.
25. Sad Larcher J., Capellino F., De Giusto R., Travella C., Gómez Balangione F., Kreiker G., Prats Cardona H., Zarate A., Vilaro M., Hernández D., Ruiz Orrico G. "Colonización por Estreptococo beta hemolítico del grupo B durante el embarazo y prevención de enfermedad neonatal". Medicina (Buenos Aires) 2005; 65: 201-206.
26. Tamariz J. y col. Colonización vaginal y ano rectal por *Streptococcus agalactiae* en gestantes de los Hospitales Nacionales Cayetano Heredia y Arzobispo Loayza. Rev Med Hered 2004; 15:144-150.
27. De Cueto M, et al. Prevención de infección neonatal por *Streptococcus agalactiae*. Un tema consolidado. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2003; 21(4): 171-3.
28. Delgado-Picado E, Sáenz-Sánchez C, Calderón-Zuñiga A. Tasa de colonización del *Streptococcus agalactiae* en gestantes y neonatos. Rev. Costarric. Cienc. Med. Vol.25 n.1-2 San José Jan. 2004.
29. Álvarez Cruz A, Toraño Peraza G, Llanos Caballero R. Colonización vaginal/rectal por *Streptococcus agalactiae* en gestantes de Melena del Sur, Cuba. Revista Cubana de Medicina Tropical 2014; 66(3): 415-423.
30. Amaya-Pino J.P, Bello-Trujillo A.M, Mendivil-Ciodaro C, Correa-Jiménez O, Reyes-Ramos N. Prevalencia de colonización vaginal y rectal por *Streptococcus agalactiae* en gestantes con trabajo de parto pre-término en Clínica Maternidad Rafael Calvo entre agosto 2011 y enero 2012. Rev. Cienc. Biomed. 2013; 4(1): 20-30.
31. Ortiz M.E y col. Frequency of group B *Streptococcus* colonization in 35 to 37 weeks pregnant women in the San Pablo Maternal-Child Hospital. Men. Inst investing. Cienc. Salud. Vol 9(2) diciembre 2013: 32-40.
32. Di Bartolomeo S. "*Streptococcus agalactiae* en embarazadas, Prevalencia en el Hospital Nacional Alejandro Posadas". Revista Argentina de Microbiología (2005) 37: 142-144.
33. Cannistraci L, Giolito R, Sienko G, Fernandez C, Tamagnone MS, Oviedo J, Becerra M.E, Littvik A. Prevalencia de colonización recto vaginal con *Streptococcus agalactiae* en embarazadas, análisis de la epidemiología materna. Congreso Latinoamericano de Salud Pública 2012. VIII Jornadas Internacionales de Salud Pública.

34. Center for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: A public health perspective. *Morb Mortal Wkly Rep* 1996; 44: RR-7.
35. Acikgoz Z, Turhan N, Gamberzade S, Gocer S. Increasing the detection rate of group B streptococcal carriers by nonselective cervico-vaginal culture accompanied with selective vagino-anorectal one. *Diagnostic Microbiol Infect Dis* 2003; 46: 69-71.
36. Bosch J, Murillo S, Rico M, Salgado M. Utilidad de un medio selectivo disco-caldo para la detección de estreptococo del grupo B en la vagina. *Enferm Infec Microbiol Clin* 1998; 6: 83-4.
37. Dunne W, Holland-Staley C A. Comparison of NNA agar culture and selective broth culture for detection of group B streptococcal colonization in women. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2298-300.
38. García E, Rodríguez M, Bartolomé R, Borjano B, Cabrero I, Andreu A. Evaluation of the Granada agar plate for detection of vaginal and rectal group B Streptococci in pregnant women. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2648-51.
39. Gupta Ch, Briski I. Comparison of two culture media and three sampling techniques for sensitive and rapid screening of vaginal colonization by group B *Streptococcus* in pregnant women. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3975-7.
40. Overman S, Eley D, Jacobs B, Ribes J. Evaluation of methods to increase the sensitivity and timeliness of detection of *Streptococcus agalactiae* in pregnant women. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4329-31.
41. Sayahtaheri S, Dryja D. Detection of group B Streptococcus: Comparison of solid and liquid culture media with and without selective antibiotics. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994; 18: 141-4.
42. Montibello S, Guelfand L, Machaín M, Carrión N, Ferreira M, Pidone J, Ceregido M, Kaufman S, Soloaga R. Optimización de metodología de cribaje para la búsqueda de *Streptococcus agalactiae* en embarazadas. *Revista Argentina de Microbiología* (2011) 43: 4-8.
43. Hensler ME, Liu GY, Sobczak S, Benirschke K, Nizet V, Helat GP. Virulence role of group B Streptococcal beta-hemolysin/cytolysin in a neonatal rabbit model of early-onset pulmonary infection. *The Journal of Infectious Diseases* 2005; 191:1287–91.
44. J.I. Alós Cortés et al. Prevención de la infección perinatal por estreptococo del grupo B. Recomendaciones españolas. Actualización 2012. Documento de consenso SEIMC/SEGO/SEN/SEQ/SEMFYC. *Enferm. Infec. Microbiol. Clin.* 2013;31(3):159–172.