Valores referenciales de antiestreptolisina O y portadores asintomáticos de estreptococos β -hemolíticos en adolescentes y adultos del Municipio Francisco Linares Alcántara, Venezuela

Clara Gutiérrez, María Chacón, Luis Pérez-Ybarra, Hilary Rivero, Sheryl Straga y Juan Luis-León

Reference values antistreptolysin O and asymptomatic carriers of β -hemolytic streptococci in adolescents and adults at Municipality Francisco Linares Alcántara, Venezuela

Introduction: β -hemolytic streptococci (*Streptococcus pyogenes*) groups A, C or G, secretes streptolysin O, toxin which causes in the infected individual an adaptive humoral immune response with production of serum antibodies called anti-streptolysin O (ASO). **Objectives:** To determine the reference value of ASO in a sample of 159 individuals aged 16-72 years from municipality Francisco Linares Alcántara, Aragua state, applying indirect (passive) agglutination test. By using a throat swab sample which was sown in blood agar 5% the frequency of asymptomatic carriers of β -hemolytic streptococci was also determined. **Results and Discussion:** As reference value for determining ASO by agglutination method a title of up to 200 IU/mL was obtained, this reference value differs from that recommended by the commercial equipment. Asymptomatic carriers frequency was 21.2% (n = 34). The distribution of β -hemolytic streptococci isolated were: group A (17.6%), group B (32.3%), group C (20.5%), group D (2.9%), group F (8.8%), group G (14.7%) and unclusterable (2.9%). **Conclusions:** The new ASO reference value for teens and adults of the mentioned municipality is up to 200 IU/mL. β -hemolytic *Streptococcus* group B was the most frequently isolated.

Key words: Anti-streptolysin O, ASO, β -hemolytic *Streptococcus*, *Streptococcus pyogenes*, reference values, asymptomatic carriers.

Palabras clave: Antiestreptolisina O, ASO, estreptococo β -hemolítico, *Streptococcus pyogenes*, valores referenciales, portadores asintomáticos.

Universidad de Carabobo, Venezuela.

Facultad de Ciencias de la Salud- Sede Aragua.

Departamento de Microbiología (CG, MC, JL-L).

Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas "Dr. Carlos Palacios" (CG, MC, LP-Y, HR, SS, JL-L).

Departamento de Ciencias Básicas (LP-Y).

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Fuente de financiamiento:

Proyecto Mayor CDCH-UC

2012-003 y Ayudas Menores:

CDCH-UC-AM-173-11 y CDCH-UC-AM-027-13.

Recibido: 21 de enero de 2015

Aceptado: 22 de octubre de 2015

Correspondencia a:

Clara Nancy Gutiérrez G.

claranancy88@hotmail.com

claranancy@gmail.com

Introducción

Streptococcus β -hemolíticos del grupo A (*Streptococcus pyogenes*), C y G son bacterias gram-positivas capaces de invadir el tracto respiratorio superior al igual que otros tejidos blandos¹⁻³. Estos microorganismos producen faringitis induciendo la producción de anticuerpos antiestreptolisina O, los que pueden ser detectados en el laboratorio por diversos métodos como la aglutinación (pasiva) indirecta⁴. Los reactivos de este método y los valores referenciales son característicos de la región geográfica donde se producen. En Venezuela, para la interpretación de los títulos obtenidos en la determinación de antiestreptolisina O se utilizaron los valores referenciales propios del kit comercial. Estos valores referenciales pueden variar de un país a otro, situación que conlleva a una falta de precisión en la interpretación de estos anticuerpos. Esto se debe a las diferentes características geográficas de cada país, así como a las condiciones socio-económicas y grupos etarios de la población en la que se establecen dichos valores.

Objetivos

Uno de los objetivos de esta investigación fue la determinación de los valores referenciales en adolescentes y adultos sanos del municipio Francisco Linares Alcántara del Estado Aragua, Venezuela. Un segundo objetivo fue identificar los diferentes grupos de *Streptococcus* β -hemolíticos portados en su faringe.

Hay una serie de signos y síntomas característicos de un paciente con faringitis⁵. Contrariamente a dicha sintomatología, se conoce la existencia de personas en estado de portador sano (de aquí en adelante simplemente *portador*), que pueden propagar el microorganismo a otras en su entorno, sobre todo si es de reciente adquisición. Este estado de portación puede darse también en la convalecencia de un tratamiento antimicrobiano que no logró erradicar el microorganismo causal⁶.

Materiales y Métodos

Investigación de tipo descriptiva y de corte transversal. La población estuvo conformada por 7.500 habitantes de los siguientes consejos comunales: La Morita II, Santa

Inés, Morean Soto, Francisco de Miranda, Las Delicias, El Venerable y La Paz, del municipio Francisco Linares Alcántara, estado Aragua. La muestra estuvo constituida por 159 personas asintomáticas, con edades comprendidas entre 16 a 72 años y el período de estudio fue desde el mes de enero hasta julio de 2013.

Se extrajo de cada paciente 4 mL de sangre, la cual se colocó en un tubo sin anticoagulante y se esperó hasta la retracción del coágulo para así extraer el suero, manteniéndolo a menos 20°C hasta su uso.

Con el suero se procedió a realizar la prueba de aglutinación (pasiva) indirecta de acuerdo a las instrucciones del inserto del *kit* (*Teco Diagnostic*). Para la prueba cualitativa, se mezcló 50 µL del suero del paciente con una gota del reactivo de látex. Simultáneamente se ensayaron 50 µL de control negativo (suero humano estabilizado provisto en el *kit* comercial con una concentración menor a 200 UI/mL) y 50 µL de control positivo (suero humano provisto en el *kit* comercial con una concentración de por lo menos 200 UI/mL). Se mezcló y se rotó en una lámina de fondo oscuro durante dos minutos. Se comparó el resultado del paciente (aglutinación macroscópica o no) con los controles. En caso de positividad en la muestra del paciente, ésta se diluyó 1/2, 1/4, 1/8, etc. con tampón glicina salino y se repitió la prueba cualitativa con cada dilución (prueba semicuantitativa). El título se determinó como la máxima dilución hasta donde se observara aglutinación macroscópica. Para el cálculo de la sensibilidad relativa se multiplicó el inverso del título por 200 UI/mL, siendo esta última cifra la sensibilidad analítica del *kit* comercial.

Para la determinación de los niveles de referencia de antiestreptolisina O en adultos sanos, se siguió el protocolo C28 A3 del “*Clinical and Laboratory Standards Institute*”⁷, el cual establece que dicha determinación se debe realizar con base a una muestra de al menos 120 individuos; en la presente investigación se incluyó un número mayor de individuos, previniendo la aparición de datos extremos (del inglés “*outliers*”), que de estar presentes tendrían que ser descartados y de esta manera se garantiza que el tamaño de muestra sea igual o mayor a 120 individuos. El muestreo fue no probabilístico de tipo intencional. Se solicitó el consentimiento informado de participación en la investigación a las personas adultas o a sus representantes legales si era menor de 18 años. Previo a la ejecución del trabajo, se obtuvo la aprobación del consentimiento informado por parte del Comité de Bioética del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Carabobo (Biomed UC).

Los valores referenciales para el método de aglutinación se establecieron a través del percentil 95. Por cuanto que la variable respuesta, títulos, presenta una escala discreta y con valores múltiplos de 200 y en potencia de base 2 (< 200, 200, 400, 800, 1.600, y así sucesivamente),

es decir, la respuesta medida, a pesar de ser cuantitativa no es continua, por esa razón no se estimaron los intervalos al 95% de confianza a partir de la distribución normal estándar. El percentil 95 se calculó para los datos generales. Se construyó una tabla de contingencia de dimensión 4 x 2 para la variable grupo etario según el resultado de la prueba de aglutinación. Sobre esta tabla se aplicó la prueba de independencia de chi-cuadrado (χ^2), y en caso de resultar significativa se construyó el gráfico *bi-plot* del análisis de correspondencias simple, con la finalidad de caracterizar la asociación encontrada. Un resultado se consideró positivo para la prueba de aglutinación si los títulos eran iguales o mayores a 200 UI/mL.

Para la identificación de los estreptococos β -hemolíticos se obtuvo de cada participante un exudado faringeo con hisopo estéril, el cual se colocó en caldo Todd-Hewitt y una vez en el laboratorio se incubó a 35°C durante 4 h. Luego se procedió a la siembra de la muestra en una placa de agar sangre de cordero a 35°C en un ambiente de microaerofilia durante 24 a 48 h. Posteriormente, se repicaron aquellas colonias sospechosas con la finalidad de obtener un cultivo puro y se observaron a las 24-48 h en las mismas condiciones anteriores. A partir de las colonias se realizó tinción de Gram y la prueba de la catalasa para finalmente identificar los estreptococos β -hemolíticos con los reactivos del *kit* comercial (*Oxoid kit*), para lo cual se siguieron las instrucciones del inserto del *kit*.

Las pruebas se consideraron significativas siempre que $p \leq 0,05$, ya que el nivel de significación se estableció en $\alpha = 5\%$. Los cálculos se realizaron utilizando los programas estadísticos Minitab, Statistix y StatXact versiones 14.3, 8.0 y 8.0 para Windows, respectivamente.

Resultados

La distribución porcentual de los títulos de antiestreptolisina O hallados mediante la prueba de aglutinación, reveló que 96,9% (154/159) de los individuos examinados presentaron títulos iguales o menores a 200 UI/mL. Este título se corresponde con el percentil 95 y constituye el valor referencial obtenido mediante la aplicación de esta prueba.

En la Tabla 1 se presentan las frecuencias de individuos positivos para la prueba de aglutinación distribuidos según grupos etarios. Cuando se aplicó la prueba de independencia de χ^2 se encontró asociación significativa entre los resultados de la prueba de aglutinación y las edades de las personas.

El gráfico *bi-plot* para estas variables indica que hay una clara tendencia a presentar mayor probabilidad de resultados positivos para la prueba de aglutinación en los pacientes de hasta 40 años, y a partir de allí, la tendencia es a presentar una mayor frecuencia de resultados negativos (Figura 1).

Se procedió a determinar la frecuencia de portadores de estreptococos. De los individuos estudiados 34 (21,2%) fueron portadores de *Streptococcus* β -hemolíticos.

En la Tabla 2, se presenta la distribución de *Streptococcus* β -hemolíticos aislados en los individuos de los diferentes consejos comunales en el municipio Francisco Linares Alcántara, Estado Aragua, en la cual se observa un predominio de *Streptococcus* β -hemolíticos del grupo B (n: 11; 32,3%), seguido del grupo C (n: 7; 20,6%) y el grupo A (n: 6; 17,6%).

Discusión

El objetivo principal de esta investigación fue determinar los valores referenciales de antiestreptolisina O en adultos por el método de aglutinación (pasiva) indirecta con particular de látex, técnica muy utilizada en nuestro medio. Este valor resultó en un título de 200 UI/mL o menos, lo que no coincide con el *kit* comercial utilizado, ya que los valores referenciales de este *kit* se corresponden con valores inferiores a 200 UI/mL. En consecuencia, teniendo en cuenta el nuevo valor referencial, si a un paciente se le reporta un título igual a 200 UI/mL, no se consideraría un proceso infeccioso agudo, contrario a la interpretación que entrega el fabricante del *kit* comercial.

Se han realizado pocos estudios en los que se determinen valores referenciales de antiestreptolisina O en adultos, los mayores esfuerzos se han centrado en el cálculo de los valores referenciales en niños y adolescentes, ya que estos grupos etarios son los más susceptibles de padecer infecciones estreptocócicas. En una investigación realizada por Kibukamusoke y Tsirkin⁸ en Zambia (África), se determinaron los valores referenciales de antiestreptolisina O en adultos, encontrando un valor menor a 200 UI/mL, valores que se corresponden con el *kit* utilizado en esta investigación.

Mhalu y Matre⁹, determinaron valores referenciales de antiestreptolisina O en Tanzania por el método nefelométrico, obteniendo hasta 250 UI/mL resultado semejante al reportado en esta investigación.

Karmakar y cols.¹⁰, realizaron un estudio donde evaluaron y reevaluaron el límite superior normal en niños y adultos, obteniendo para niños un título de hasta 305 UI/mL y de hasta 195 UI/mL para adultos. Cabe señalar, que este estudio se realizó con la técnica de neutralización y las unidades internacionales (UI) reportadas se corresponden con la conversión de Unidades Todd a UI recomendada por la OMS. Otros hallazgos es el reporte de Klein y cols.¹¹, quienes empleando el método de neutralización, obtuvieron títulos de 170 U Todd/mL en niños de edad escolar y 85 U Todd/mL en individuos adultos. Asimismo, en el estudio de Berrios y cols.¹², quienes por el mismo método analizaron 135 muestras de la Región Metropolitana de Santiago de Chile, obtuvieron valores

Tabla 1. Frecuencia de títulos de antiestreptolisina O iguales o mayores a 200 UI/mL por aglutinación para cada grupo etario

Grupo etario (años)	Resultados de la prueba de aglutinación				Total	(%)
	Negativo	(%)	Positivo	(%)		
20 o menos	14	12,2	10	22,2	24	15,0
21 a 40	39	34,2	22	48,8	61	38,3
41 a 60	46	40,3	11	24,4	57	35,8
61 o más	15	13,1	2	4,4	17	10,6
Total	114	100,0	45	100,0	159	100,0

χ^2 : 8,4928; 3 gdl; p: 0,0367.

Tabla 2. Distribución de frecuencias de los diferentes grupos de *Streptococcus* β -hemolíticos

Grupo antigénico	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
B	11	32,3
C	7	20,6
A	6	17,6
G	5	14,7
F	3	8,8
D	1	2,9
No agrupable	1	2,9
Total	34	100,00

Figura 1. Relación entre los grupos etarios de los pacientes y el resultado de la prueba de aglutinación.

de 127 U Todd/mL en el grupo etario de 10 a 14 y 114 U Todd/mL en mayores de 15 años. En el mismo municipio de Francisco Linares Alcántara, se llevó a cabo un estudio en estudiantes de 10 a 15 años, obteniéndose un valor referencial por el método de aglutinación de hasta 400 UI/

mL¹³. Estos resultados nos hacen confirmar que a menor edad del grupo etario mayor probabilidad existirá de encontrar valores referenciales altos. Tal vez la explicación de este hallazgo es que los niños son más propensos de padecer faringitis por *S. pyogenes* de manera repetida y estos repetidos contactos con el microorganismo permiten tener un título alto de anticuerpos.

Con respecto a la obtención de títulos positivos según el grupo etario se pudo encontrar en los individuos de 16 años hasta los 40 años mayor porcentaje de títulos positivos comparado con los mayores de 41 años y la diferencia resultó estadísticamente significativa. Este resultado nos indica que entre los adolescentes y adultos los títulos positivos son más probables de encontrarlos en los sujetos menores o iguales a 40 años.

Uno de los inconvenientes que se presenta con la determinación de anticuerpos antiestreptolisina O es la presencia de falsos valores positivos en pacientes con artritis reumatoidea, mieloma IgM kappa, hepatitis viral aguda, tuberculosis, listeriosis, infecciones por *Streptococcus pneumoniae*; sin embargo, en el presente estudio no constituyó una limitante, ya que esta investigación se hizo con individuos aparentemente sanos¹⁴⁻¹⁶. También se pueden encontrar falsos negativos por el efecto de los fenómenos zonales por exceso de anticuerpos, tal como quedó demostrado en el estudio de Gutiérrez y cols.¹³.

Una vez realizados los procedimientos para la identificación de estreptococos β -hemolíticos, se encontró que 34 (21,2%) individuos resultaron portadores de 160 estudiados. En este orden de ideas, Romero y cols.¹⁷, realizaron una investigación en Maracaibo, Estado Zulia a 181 individuos pertenecientes a instituciones militares de la ciudad, quienes obtuvieron 79 (43,6%) individuos portadores y 102 (56,3%) no portadores, cuyos resultados difieren de lo obtenido en esta investigación; cabe destacar que el personal militar se encuentra en hacinamiento, lo cual es una ventaja para la propagación de este microorganismo y ésta podría ser la causa de la diferencia. Por otra parte, Huovinen y cols.¹⁸, realizaron una investigación a 106 individuos de 15 a 65 años en Finlandia, los cuales obtuvieron 24 (22,6%) individuos portadores de estreptococos β -hemolíticos, dato semejante al obtenido en la presente investigación, 46 (43,3%) portadores de otros microorganismos (*Mycoplasma pneumoniae*, diferentes especies de *Chlamydia* y virus), 3 (2,8%) infectados por dos microorganismos simultáneamente y 33 (31,13%) no portadores.

Al realizar la tipificación de este microorganismo se obtuvo un porcentaje de aislamiento para *Streptococcus* grupo A de 17,6%, semejante resultado al obtenido por Romero y cols.¹⁷, quienes encontraron 17,2%, de aislamiento; este estudio se efectuó en 181 individuos pertenecientes a instituciones militares. Por el contrario, el estudio realizado por Romero-Coasaca y cols.¹⁹, arrojó

un aislamiento para el grupo A de 6,2% lo que difiere con lo hallado en esta investigación.

Romero y cols.¹⁷, encontraron 27,5% de aislamiento para *Streptococcus* β -hemolítico grupo B, hallazgo similar a los resultados de esta investigación, en la que se obtuvo un porcentaje de aislamiento de 32,3%. El estudio de Guevara y cols.²⁰, realizado en Chachapoyas (Perú) a 148 muestras de exudado faríngeo, reveló 2,6%, de aislamiento para este grupo, resultado contrario a lo encontrado en el presente estudio. Investigaciones como las de Devi y cols.²¹, González-Lama y cols.²² y Miranda²³, obtuvieron una frecuencia de aislamiento en escolares que osciló entre 3,7 y 11%; cabe acotar que estos estudios se realizaron en un grupo etario diferente al de esta investigación. Este estreptococo ha sido relacionado con infecciones en neonatos y mujeres embarazadas; sin embargo, su reporte como patógeno oportunista y nosocomial en infecciones graves en población adulta no embarazada, ha experimentado un aumento en las últimas décadas. Dicho microorganismo se puede encontrar en la microbiota gastrointestinal, genitourinaria e incluso puede colonizar las vías respiratorias altas ocasionando cuadros de faringitis en niños y adultos^{20,24,25}.

Streptococcus β -hemolíticos del grupo C representó 20,6% de aislamiento en esta investigación, valor semejante al estudio realizado por Parra y Rivero²⁶, a 122 individuos en Cumaná, Estado Sucre (Venezuela), en el cual obtuvieron 20,7% de aislamiento. Betriu y cols.²⁷, aislaron a este microorganismo en 2,3% en las 347 muestras analizadas. Cabe destacar que las investigaciones mencionadas se hicieron en niños y al comparar los resultados obtenidos para este grupo etario, se evidencia que en los últimos años ha venido incrementando el aislamiento de este grupo, lo que permite catalogarlo como presunto patógeno de la faringe.

Streptococcus β -hemolítico grupo F se aisló en 8,8%; Álvarez y cols.²⁸, señalan que este estreptococo está relacionado con cuadros de otomastoiditis crónica colesteatomatosa, patología comúnmente causada por bacterias gramnegativas y anaerobias.

En este estudio, *Streptococcus* β -hemolítico del grupo G representó 14,7% de aislamiento, valor que difiere al realizado por Romero y cols.¹⁷, quienes reportan un aislamiento de 41,3%. Miranda²³ por su parte, obtuvo 17,6% de aislamiento. Este microorganismo fue considerado por muchos años como no patógeno o microbiota normal en los humanos al igual que *Streptococcus* β -hemolíticos del grupo C; sin embargo, ya se han implicado en la producción de faringitis en niños y adultos, como también en otros procesos infecciosos de piel y tejidos blandos²⁹⁻³¹.

Los resultados de esta investigación contribuirán a una mejor interpretación de los títulos de antiestreptolisina O obtenidos en los pacientes adultos del municipio Francisco Linares Alcántara del Estado Aragua, Venezuela,

utilizando el método de aglutinación pasiva indirecta con partículas de látex.

Agradecimientos. A CDCH-UC a través de los proyectos: 2012-003, AM-173-11 y AM-027-13.

Resumen

Introducción: Los estreptococos β -hemolíticos del grupo A (*Streptococcus pyogenes*), C o G, secretan estreptolisina O, toxina que causa en el individuo infectado una respuesta inmune adaptativa humoral con producción de anticuerpos séricos denominados antiestreptolisina O (ASO). **Objetivos:** Determinar el valor referencial de ASO en una muestra poblacional de 159 individuos con edades comprendidas entre 16 y 72 años del municipio

Francisco Linares Alcántara, estado Aragua mediante aglutinación (pasiva) indirecta. También se determinó la frecuencia de portadores asintomáticos de estreptococos β -hemolíticos utilizando una muestra de exudado faríngeo que se sembró en agar sangre de cordero al 5%. **Resultados y Discusión:** Como valor referencial para la determinación de ASO por el método de aglutinación se obtuvo un título de hasta 200 UI/mL, valor que difiere del recomendado por el *kit* comercial. La frecuencia de portadores fue 21,2% (n = 34). La distribución de los estreptococos β -hemolíticos aislados fue: grupo A (17,6%), grupo B (32,3%), grupo C (20,5%), grupo D (2,9%), grupo F (8,8%), grupo G (14,7%) y no agrupable (2,9%). **Conclusiones:** El nuevo valor referencial de ASO para adolescentes y adultos del municipio mencionado es hasta 200 UI/mL. *Streptococcus* β -hemolítico del grupo B fue el grupo más frecuentemente aislado.

Referencias bibliográficas

- 1.- Facklam R. What happened to the streptococci: Overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15 (4): 613-30.
- 2.- Matas L, Méndez M, Rodrigo C, Ausina V. Diagnóstico de las faringitis estreptocócicas. *Enferm Infecc Microbiol Clín* 2008; 26 (Supl 13): 14-8.
- 3.- Winn W, Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P. Diagnóstico Microbiológico. 6ª Ed Argentina: Médica Panamericana; 2008, pp 1696.
- 4.- Carpinelli L, Fariña N, Samudio M, Figueredo L, Laspina F, Sanabria R. Frecuencia de serogrupos de estreptococos beta-hemolíticos en hisopados faríngeos de pacientes con faringitis. *Mem Ins Investig Cienc Salud* 2008; 6 (19): 15-9.
- 5.- Bisno A. Acute pharyngitis. *N Engl J Med* 2001; 344 (3): 205-11.
- 6.- Giannelli S, Posse G. Prevalencia de portación asintomática del estreptococo β hemolítico grupo A (*Streptococcus pyogenes*). *Arch Argent Pediatr* 2007; 105 (3): 221-4.
- 7.- Greffe A, Friedrichs K, Harr K, Concordet D, Trumel C, Braun J-P. Reference values: a review. *Vet Clin Pathol* 2009; 38 (3): 288-98.
- 8.- Kibukamusoke J, Tsirkin R. Normal values in adult Zambians: XI. Anti-streptolysin O titres. *Med J Zambia* 1978; 12 (2): 53-4.
- 9.- Mhalu S, Matre R. Antistreptolysin o and antideoxyribonuclease B titres in blood donors and in patients with features of non-suppurative sequelae of group A *Streptococcus* infection in Tanzania. *East Afr Med J* 1995; 72 (1): 33-6.
- 10.- Karmakar M, Venugopal V, Joshi L, Kamboj R. Evaluation & revaluation of upper limits of normal values of anti-streptolysin O & antideoxyribonuclease B in Mumbai. *Indian J Med Res* 2004; (119): 26-8.
- 11.- Klein G, Baker C, Jones W. Upper limits of normal antistreptolysin O and antideoxyribonuclease B titers. *Appl Microbiol* 1971; 21 (6): 999-1001.
- 12.- Berrios X, Herbage S, Rodríguez C, Pierotie M, Moraga V. Anticuerpos antiestreptocócicos, en población general: estudio comparativo en dos periodos en un servicio de salud. *Rev Chil Pediatr* 1989; 60 (6): 333-7.
- 13.- Gutiérrez C N, Guzmán N A, González Y A, Luis-León J, Pérez-Ybarra L M, Chacón M Z. Valores referenciales de antiestreptolisina O en estudiantes de 10 a 15 años del Municipio Francisco Linares Alcántara, Estado Aragua, Venezuela. *Comunidad y Salud* 2014; 12 (2): 1-7.
- 14.- Pérez C, Borda A, Zúñiga A, De La Cruz L. Interpretación clínica de anticuerpos antiestreptococo en fiebre reumática. *Rev Panam Infectol* 2008; 10 (3): 36-42.
- 15.- Leimeister-Wachter M T, Chakraborty, Goebel W. Detection and presence of two haemolytic factors in *Listeria* spp. *Ann Inst Pasteur Microbiol* 1987; 138: 252-6.
- 16.- Chatzypanagiotou S, Hof H. Sera from patients with high titers of antibody to streptolysin O react with listeriolysin. *J Clin Microbiol* 1988; 26 (5): 1066-7.
- 17.- Romero S, Ginestre M, Martínez A, Rincón G, Harris B, Castellanos M. Estreptococos beta-hemolítico en la faringe de personal militar. *Rev Soc Ven Microbiol* 2001; 21 (2): 10-3.
- 18.- Huovinen P, Lahtonen R, Ziegler T, Meurman O, Hakkarainen K, Miettinen A, et al. Pharyngitis in adults: the presence and coexistence of viruses and bacterial organisms. *Ann Intern Med* 1989; 15: 110 (8): 612-6.
- 19.- Romero-Coasaca A, Requena-Mendizába M, Martínez-Cadillo E, Ladera-Nieto M. Prevalencia de portadores asintomáticos de *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae* en estudiantes del primer año de la Facultad de Odontología de la USMP. *Kiru* 2009; 6 (2): 84-7.
- 20.- Guevara J, Aguirre J, Valencia E, Guevara J, Williams F, Cuéllar E, et al. Prevalencia de *Streptococcus* beta-hemolítico en pacientes con faringoamigdalitis aguda, en un hospital de la ciudad de Chachapoyas, Amazonas. *An Fac Med* 2008; 69 (2): 88-90.
- 21.- Devi U, Borah P, Mahanta J. The prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of beta-hemolytic streptococci colonizing the throats of schoolchildren in Assam, India. *J Infect Dev Ctries* 2011; 5 (11): 804-8.
- 22.- González-Lama Z, González J, Lupiola P, Tejedor M. Portadores de estreptococos beta-hemolíticos de los grupos A, B y C en escolares de Las Palmas. *Enferm Infecc Microbiol Clín* 2000; 18 (16): 271-3.
- 23.- Miranda M. Comportamiento de los estreptococos beta-hemolíticos en escolares. *Sanid Mil* 2012; 68 (1): 17-21.
- 24.- Chávez M, Requelme E, Natividad E, Luján M, Otiniano N, Benites S, et al. Frecuencia y

- susceptibilidad antimicrobiana de *Streptococcus* beta-hemolítico del grupo B aislados en pacientes con faringitis aguda de dos hospitales de la ciudad de Chepén, Perú. Rev Med Vallejana 2008; 5 (2): 100-7.
- 25.- Zurita J, Mendoza J, Espinoza Y. Infecciones causadas por *Streptococcus* beta-hemolítico B (*S. agalactiae*) en adultos. Rev Med Vozandes 2000; 13 (1): 71-4.
- 26.- Parra E, Rivero A. Faringitis exudativa en niños por *Streptococcus* beta-hemolítico del grupo C y sensibilidad antimicrobiana. Trabajo presentado en XXIX Jornadas Venezolanas de Microbiología [Internet]. 2005 [cited 2014 Dic 15]. Available from: <http://caibco.ucv.ve/caibco/vitae/VitaeVeinticinco/JornadaMicrobiologia/ArchivosHTML/BC-012.pdf>
- 27.- Betriu C, Romero J, Sánchez A, Sánchez M, Gómez M, Picazo J. Estudio del estado de portador de estreptococos beta-hemolíticos de los grupos A, B, C y G. Enferm Infecc Microbiol Clin 1994; (12): 285-8.
- 28.- Álvarez F, Gómez J, Maseda E, Álvarez F. Otomastoiditis colestomatosa crónica por estreptococo de grupo F con fistulización espontánea. An Pediatr 2009; 67 (4): 378-80.
- 29.- Bramhachari P, Kaul S, McMillan D, Shaila M, Karmakar M, Sriprakash K. 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 2010; 59: 220-3.
- 30.- Sylvestsky N, Raveh D, Schlesinger Y, Rudensky B, Yinnon A. Bacteremia due to beta-hemolytic *Streptococcus* group G: increasing incidence and clinical characteristics of patients. Am J Med 2002; 112: 622-6.
- 31.- Zaoutis T, Attia M, Gross R, Klein J. The role of group C and group G streptococci in acute pharyngitis in children. Clin Microbiol Infect 2004; 10: 37-40.