

***Streptococcus agalactiae*. Alternativas Diagnosticas, Avances En Nuestro Grupo De Investigación**

Duque Clara M.¹, Sánchez Diana Marcela¹, Gómez Beatriz¹, Gómez Beatriz², Carmona Jenny Andrea², Cifuentes Damian³, Gaviria Angela M¹, Hernández Orville⁴

1 Grupo de investigación Biociencias IU Colegio Mayor de Antioquia

2 Dinamica IPS

3. Estudiante IU Colegio Mayor de Antioquia.

4 Grupo de Investigación MICROBA. Escuela de Microbiología. Universidad de Antioquia

Resumen

Streptococcus agalactiae (*S. agalactiae*), es una causa importante de neumonía, sepsis y meningitis con alto índice de mortalidad en neonatos. La colonización por *S. agalactiae*, se produce por la exposición del recién nacido al microorganismo durante el parto a partir del tracto genital materno colonizado. La importancia de realizar tamización de colonización de las gestantes antes del parto, radica en definir el empleo de antibióticos profilácticos y prevenir el desarrollo de la infección en el neonato. Se requiere de métodos sensibles que garanticen la recuperación del microorganismo. El cultivo de muestras de región perianal e introito vaginal en caldo selectivo es la prueba de oro recomendada por el Centers for Disease Control and Prevention (CDC), una alternativa diagnóstica es el uso de medios cromogénicos, sin embargo, los cultivos requieren varios días para obtener resultados. Además se han evaluado métodos moleculares como PCR en tiempo real con muy buena sensibilidad y especificidad. Presentamos las características de *S. agalactiae*, los métodos diagnósticos y los resultados obtenidos en nuestro grupo de investigación.

Palabras Clave: *Streptococcus agalactiae*, Colonización, Cultivo, PCR en tiempo real, perfil de sensibilidad.

Abstract

Streptococcus agalactiae (*S. agalactiae*) is an important cause of pneumonia, sepsis and meningitis with high mortality rate in neonates. Colonization by *S. agalactiae* is caused by exposure of the newborn to the microorganism during labor from the colonized maternal genital tract. The importance of screening for colonization of pregnant women before delivery is to define the use of prophylactic antibiotics and prevent the development of infection in the neonate. Sensitive methods are required to ensure the recovery of the microorganism. The culture of samples of perianal region and vaginal introitus in selective broth is the gold test recommended by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC), an alternative diagnosis is the use of chromogenic culture media, however, the cultures require several days to obtain results. In addition, molecular methods such as real-time PCR with very good sensitivity and specificity have been evaluated.

We present the characteristics of *S. agalactiae*, the diagnostic methods and the results obtained in our research group.

Streptococcus agalactiae

Es un patógeno importante de neumonía, sepsis y meningitis con alto índice de mortalidad en neonatos, es la primera causa de infecciones severas invasivas en el recién nacido y en lactantes menores de tres meses. Además es un importante agente de morbilidad infecciosa materna y un patógeno oportunista en adultos con enfermedades crónicas predisponentes. En las mujeres embarazadas, puede dar origen a infección urinaria, corioamnionitis, endometritis y fiebre durante el parto. Los factores maternos de riesgo asociados a la infección por *S. agalactiae* son: parto prematuro (menos de 37 semanas), ruptura prolongada de membranas (mayor de 18 horas) y fiebre durante el parto (mayor de 38°C)

La colonización por *S. agalactiae*, se produce por la exposición del recién nacido al microorganismo durante el parto a partir del tracto genital materno colonizado, o en el útero por vía ascendente, siendo la tasa de transmisión vertical del 50% (1-4). Las cifras de colonización varían según la región geográfica, por factores socioeconómicos. En ciertos países desarrollados se encuentra entre 5% y 35% (1), mientras que en las naciones en desarrollo oscila entre 4% y 20%. En Latinoamérica, Argentina 10% (1), Brasil 18.4% (5), México 10.3% (6), Venezuela 32.7% (7), Chile 20% (2). En Colombia existen reportes variables de colonización materna que van desde 0% hasta 25% (8-10).

La importancia de realizar tamización de colonización de las gestantes antes del parto, radica en definir el empleo de antibióticos profilácticos y prevenir el desarrollo de la infección en el neonato. Se requiere de métodos sensibles que garanticen la recuperación del microorganismo. Tanto la técnica de toma de muestra como la metodología empleada pueden incidir en la positividad de los resultados obtenidos. El cultivo de muestras de región perianal e introito vaginal en caldo selectivo y posterior inoculación en agar sangre es la prueba de oro recomendada por el CDC para detectar colonización por *S. agalactiae* (11). Una alternativa diagnóstica es el uso de medios cromogénicos, la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivo y negativo del subcultivo en el medio ChromID Strepto B del caldo de Todd Hewitt selectivo, evaluados en el 2011, fueron 98,8%, 100%, 100% y 99,7% respectivamente. (12). Sin embargo, los cultivos requieren varios días para obtener resultados y tomar las medidas profilácticas adecuadas. Además se han evaluado métodos moleculares como PCR en tiempo real con muy buena sensibilidad y especificidad (13-18)

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Actualmente, *S. agalactiae* es la principal causa de sepsis neonatal; sin medidas de prevención, su incidencia es de aproximadamente 3 casos por mil nacidos vivos (entre el 1 y el 2% de los recién nacidos colonizados por *S. agalactiae*). La infección suele manifestarse en las primeras horas de vida bajo la forma de neumonía, sepsis o meningitis, con una mortalidad próxima al 10% (0,2- 0,5 casos por mil nacidos vivos) y a un porcentaje de secuelas del 30% entre los

sobrevivientes (19). Aunque la existencia de factores obstétricos de riesgo aumentan la probabilidad de infección en el recién nacido, sólo en la mitad aproximada de los que presentan una sepsis neonatal se identifica algún factor de riesgo. Por la aparición de síntomas la sepsis neonatal se clasifica en precoz y tardía; la precoz se presenta dentro de las primeras 72 horas de vida y la tardía, que se considera fundamentalmente intrahospitalaria, se manifiesta pasadas las 72 horas de vida (20). *S. agalactiae* es también una causa importante de infecciones en gestantes y puérperas: corioamnionitis, endometritis postparto, infección de la herida quirúrgica tras cesárea e infección del tracto urinario. La bacteriuria por el *S. agalactiae* durante el embarazo se asocia con un mayor riesgo de parto pretermino y rotura prematura de membranas, probablemente reflejo de un mayor inóculo vaginal.

CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS Y BIOQUIMICAS

S. agalactiae es una bacteria , anaerobia facultativa que puede crecer en medios de cultivo simples, aunque los medios suplementados con sangre o suero favorecen su crecimiento. A las 18-24 horas de incubación en agar sangre a 35°C, las colonias son de unos 2 mm de diámetro, lisas y β -hemolíticas, aunque existen algunas cepas no hemolíticas; es un coco Gram positivo, catalasa y oxidasa negativa, hidroliza el hipurato sódico, es resistente a la bacitracina (92-98%), al timetropim-sulfametazol. Fermenta la maltosa, glucosa, sacarosa, trehalosa y glicerol, aunque algunas cepas no son capaces de fermentar la trehalosa y glicerol, produce una proteína extracelular termoestable conocida como factor CAMP.

FACTORES DE VIRULENCIA

Posee una serie de factores de virulencia codificados entre otros por el gen cps que codifica la capsula y genes que codifican proteínas de superficie, necesarios todos para la interacción celular hésped-bacteria. La proteína Rib, muy asociada a las cepas invasivas es codificada por el gen rib. La enzima de superficie ScpB (C5a peptidasa) codificada por el gen scpB, está involucrada en el daño a neutrófilos y en la unión de la fibronectina para promover la adherencia y la invasión bacteriana de las células epiteliales. El gen cylE codifica una β -hemolisina que es una toxina asociada a la injuria de tejidos y diseminación sistémica contribuyendo a la meningitis (24)

CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS

Habitualmente se toma como método de referencia lo sugerido por el CDC, esto es, sembrar las muestras en un caldo selectivo como el de Todd Hewitt suplementado con gentamicina (8 μ g/ml) o colistina (10 μ g/ml) y ácido nalidíxico (15 μ g/ml). Los caldos deben incubarse durante 18-24h a 35 °C en atmósfera aeróbica o con 5% de CO₂; luego se subcultiva en placas con agar sangre de carnero, las cuales se deben inspeccionar a las 24h y si no se observan colonias sospechosas de *S. agalactiae*, se vuelven a incubar durante 24h adicionales. (CDC, 2002) .Una alternativa diagnostica es el uso de medios cromogénicos,

existen en el mercado diferentes agares los cuales permiten la recuperación de *S. agalactiae* con una buena sensibilidad y especificidad (29), son medios selectivos y diferenciales para la rápida detección del microorganismo, las colonias características de *S. agalactiae* tendrán colores característicos dependiendo de la composición del medio.

En el medio New Granada las cepas betahemolíticas de *S. agalactiae* producen colonias de color naranja a salmón debido al pigmento propio del microorganismo (granadaeno, un polieno asociado a rhamnosa y ornitina) (26). Sin embargo, la estabilidad del medio New Granada es limitada, existen en el mercado medios comerciales que mejoran dicha estabilidad.

MÉTODOS MOLECULARES

Se han evaluado métodos moleculares como PCR en tiempo real, obteniendo resultados prometedores en cuanto a mejoramiento de sensibilidad y especificidad frente a los métodos convencionales, entre los blancos moleculares evaluados se encuentran ensayos dirigidos a 16S rRNA, al gen *cfb* que codifica el factor CAMP, al gen *scpB* que codifica la peptidasa C5a, gen *rib*, gen *sip*, una proteína inmunogénica de superficie, gen *cylE* que codifica una β -hemolisina que es una toxina asociada a la injuria de tejidos y diseminación sistémica. Encontrando diferentes resultados en cuanto a sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos.

En un estudio realizado en Chicago (25), la sensibilidad y especificidad de la PCR en tiempo real, fue del 95.8%, y del 64.5% respectivamente y las del cultivo fueron del 83.3% y 80.6%. Los resultados del estudio realizado en Canadá fueron sensibilidad y especificidad de 90.5% y 96.1%, empleando una prueba rápida de PCR (15). El estudio realizado en Beijing demostró una positividad de 3.4% por cultivo y de 9.2% por PCR en tiempo real (16). En el estudio realizado en Washington la sensibilidad y especificidad del ensayo de PCR en tiempo real fue de 86.8% y 95.2% (17). La evaluación realizada por Fabien Rallu en Canadá, de los ensayos de *scpB* PCR mostraron una sensibilidad de 99.6% y especificidad de 100%, los de la *cfb* PCR sensibilidad de 75.3% y especificidad de 100%, y para el cultivo la sensibilidad fue de 42.3% y especificidad de 100%.(18). El ensayo de amplificación de ácidos nucleicos por PCR en tiempo real realizado en Boston, mostro una sensibilidad de 90.8%; y especificidad de 97.6% (13). Los métodos automatizados basados en PCR en tiempo real como son el Xpert GBS de Cepheid (27) y LightCycler Strep B de Roche (28) muestran sensibilidades del 90 al 95% y especificidades del 99 al 100%.

AVANCES DE NUESTRO GRUPO DE INVESTIGACIÓN

Nuestro grupo viene trabajando en esta línea para evaluar diferentes metodologías aplicables a nuestra región y necesidades particulares.

Llevamos a cabo un estudio descriptivo de corte. La población estudiada fueron 362 mujeres gestantes que consultaron en el periodo comprendido entre febrero y octubre de 2008, de ellas, 296 ingresaron al servicio de hospitalización de

ginecoobstetricia del Hospital General de Medellín y 66 consultaron en el programa de control prenatal de diferentes instituciones prestadoras de servicios (IPS) de la ciudad. a las cuales se les tomaron muestras con hisopo del introito vaginal y de la región anal. Las muestras se cultivaron simultáneamente en agar Nueva Granada y caldo Todd Hewitt con suplemento de antibióticos, a partir del cual se hizo un subcultivo en agar sangre de carnero al 5%. Los resultados obtenidos fueron: En 21 (5,8%) de 362 embarazadas se aisló *S. agalactiae*. En relación con los métodos utilizados, se encontró que 7 (33,3%) de los aislamientos se recuperaron por ambos métodos, 5 (23,8%) se recuperaron sólo en agar Nueva Granada y 9 (42,8%) sólo en caldo Todd Hewitt. Al comparar el método de recuperación en agar Nueva Granada con el método de referencia, puede afirmarse que la sensibilidad fue de 44% (IC95% 0,19 - 0,68), el valor diagnóstico positivo de 58% (IC95% 0,37 - 0,88), la especificidad de 99% (IC95% 0,97 - 1) y el valor diagnóstico negativo de 97% (IC95% 0,96 - 0,99) (Tabla 1)

Tabla 1. Recuperación de *Streptococcus agalactiae* por ambos métodos

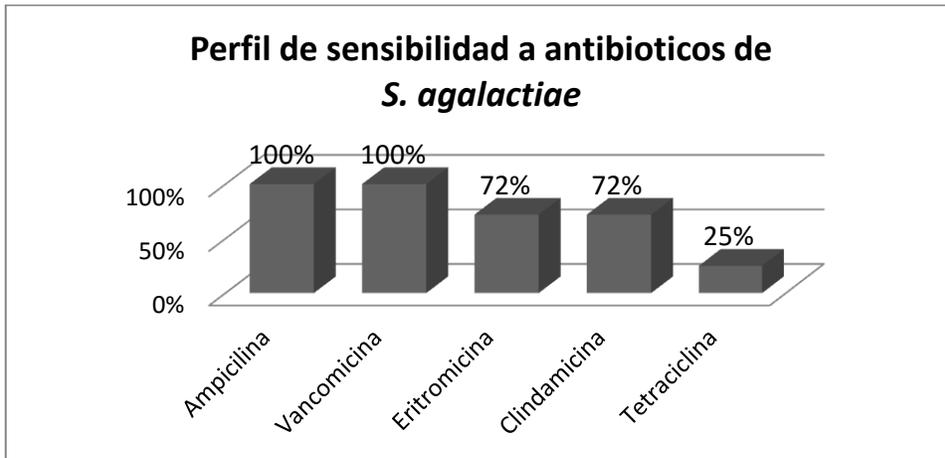
| | | PATRÓN DE ORO | | |
|--------------------|---|---------------|-----|-------|
| | | + | - | Total |
| Agar Nueva Granada | + | 7 | 5 | 12 |
| | - | 9 | 341 | 350 |
| Total | | 16 | 346 | 362 |

- **Comparación de métodos para la recuperación y determinación de la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres gestantes de Medellín (9)**

Al revisar las historias clínicas de las mujeres gestantes positivas para *S. agalactiae*, se observó que todas habían recibido tratamiento y no hubo transmisión de la infección a los recién nacidos hasta la fecha de la revisión.

Otro de nuestros trabajos tuvo como objetivo determinar el Perfil de sensibilidad de *S. agalactiae* obtenido a partir de muestras de introito vaginal y región perineal de mujeres gestantes de Medellín mediante un estudio descriptivo de corte en el cual se determinó el perfil de sensibilidad de aislamientos de *S. agalactiae* obtenidos de muestras de introito vaginal y región perineal de mujeres gestantes de la ciudad de Medellín en el periodo 2008-2010. Los aislamientos de *S. agalactiae* se recuperaron al sembrar las muestras en medio caldo Todd Hewitt con suplemento de antibióticos, a partir del cual se hizo un subcultivo en agar sangre de carnero al 5%. A los 50 aislamientos obtenidos se les evaluó el perfil de sensibilidad antimicrobiana utilizando la técnica de Kirby-Bauer. Se estudiaron 700 mujeres gestantes de los estratos socioeconómicos 1, 2 y 3 de Medellín, pertenecientes al régimen subsidiado o contributivo. En 50 (7.14%) se aisló *S. agalactiae*. De las 50 cepas estudiadas el 100% fueron sensibles a Ampicilina y Vancomicina, 72% a Eritromicina y Clindamicina y 25% a Tetraciclina. Figura 1. Además, en los aislamientos con resistencia a Clindamicina y Eritromicina (28%), los mecanismos observados fueron: MLSB inducible en 2 de los 14 aislamientos (14.2%) y en 12 (85.8%) MLSB constitutivo (29)

Figura 1. Perfil de sensibilidad a antibióticos de *S. agalactiae*



En el periodo comprendido entre Enero-Julio 2016, realizamos un estudio descriptivo prospectivo, se determinó una muestra a conveniencia de 150 mujeres gestantes entre las pacientes que consultaron en una Sede de Dinámica IPS, en el cual el criterio de inclusión fue: ser gestante entre la semana 35 - 37 y la declaración de voluntad de participar en el estudio por parte de la gestante mediante la firma del consentimiento informado y de exclusión el uso de antibióticos en el momento de toma de la muestra. La información fue procesada en SPSS versión 22.0.

A las pacientes incluidas, se les tomó muestra con hisopo del introito vaginal y de la región anal. Las muestras se procesaron simultáneamente para qPCR, cultivo en caldo selectivo con posterior siembra en agar sangre de carnero y medio cromogénico para *S. agalactiae* STRB (ChromIDTMStrepto, BioMérieux SA.). Todas las colonias compatibles con *S. agalactiae* se identificaron mediante SISTEMA VITEK 2 (BioMérieux SA).

En el estudio fueron incluidas 139 pacientes con una edad promedio de 26 años, (DS 5,8). La prevalencia de colonización por *S. agalactiae* en las gestantes fue de 20,9% (29 Muestras) de acuerdo con la prueba de oro, 22,3% (31 muestras) por agar cromogénico STRB y 36% (50 Muestras) por qPCR (Tabla 2).

Tabla 2. Colonización por *Streptococcus agalactiae* por los tres métodos evaluados

| Colonización | Gold estándar | | STRB | | qPCR | |
|--------------|---------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | Frecuencia | porcentaje | Frecuencia | porcentaje | Frecuencia | porcentaje |
| NEGATIVO | 110 | 79,1 | 108 | 77,7 | 89 | 64 |
| POSITIVO | 29 | 20,9 | 31 | 22,3 | 50 | 36 |
| Total | 139 | 100 | 139 | 100 | 139 | 100 |

Los resultados de qPCR y cultivo se compararon para calcular sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo. Los resultados encontrados al comparar la qPCR con el gold estándar fueron: sensibilidad 79,31% (IC del 95%: 0,61-0,90), especificidad 75,45% (IC del 95%: 0,66-0,82), valor predictivo positivo 46% (IC del 95%:0,32-0,59) y negativo 93,2% (IC del 95%: 0,86-0,96). Al comparar las pruebas diagnósticas qPCR y cultivo en agar cromogénico STRB: sensibilidad 83,78% (IC: 95%: 0,69-0,92), especificidad 78,3% (IC: 95%: 0,69-0,85),valor predictivo positivo 57,41% (IC: 95%:0,44-0,69)y negativo 93,2% (IC: 95%: 0,86-0,96).

CONCLUSION

Se requieren metodologías diagnósticas que permitan detectar la real prevalencia de colonización por *S. agalactiae* en nuestro medio, por lo que consideramos esencial continuar evaluando diferentes blancos moleculares como los genes *cfb*, *cylE* y *scpB*.

Bibliografía

1. Di Bartolomeo S, Gentile M, Priore G, Valle S, Di Bella A. *Streptococcus agalactiae* en embarazadas: Prevalencia en el Hospital Nacional Alejandro Posadas. Rev Argent Microbiol. 2005 Jul/Sep; 37(3):142-44.
2. Guzmán D, Abarzua F, Belmar C, Garcia P. Resultados de la aplicación del protocolo basado en *screening* para la búsqueda de *Streptococcus agalactiae* en el tercer trimestre del embarazo: Posible impacto sobre la sepsis neonatal precoz por este agente. Rev chil infectol.2001;18(3):187-92.
3. Cortes H. Prevención de la infección neonatal por estreptococo del grupo B, ¿Es necesaria en nuestro medio?. RevColomb Obstet Ginecol. 2005 Jul /Sep; 56(3):152-55.
4. Davies H, Miller M, Faro S, Gregson D, Kehl S, Jordan J. Multicenter study of a rapid molecular-based assay for the diagnosis of group B *Streptococcus* colonization in pregnant women. Clin. Infect. Dis. 2004; 39:1129–35.

5. Zusman AS., Baltimore RS., Fonseca SN.. Prevalence of maternal group B streptococcal colonization and related risk factors in a Brazilian population. *Braz J Infect Dis.* 2006 Aug;10(4):242-6
6. Reyna Figueroa J., Ortiz Ibarra FJ., Esteves Jaramillo A., Casanova Román G. Colonización materna por *Streptococcus* del grupo B en México: estimación de la prevalencia basada en la revisión bibliográfica. *Ginecol Obstet Mex.* 2007;75(7):399-403
7. Diaz RT., Nieves B., Vegas L. Colonización vaginoanorrectal por *Streptococcus* del grupo B en mujeres embarazadas con complicaciones ginecoobstétricas. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 2002;22(1):12-17
8. Nuñez, AF. y Cols: Infección Perinatal por *Streptococcus* del Grupo B. Bogotá, 2009. Trabajo de Grado (Meicina materno - fetal). Universidad Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario, Facultad de Medicina, Departamento de Ciencias Reproductivas
9. Duque, Clara y Col. Comparación de métodos para la recuperación y determinación de la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres gestantes de Medellín. *Infectio.* 2010; 14 (2): pp 105-111
10. MD. Vargas L. Alberto, MD. Campuzano. Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en gestantes con factores de riesgo y sus recién nacidos. Hospital universitario San Vicente de Paul. 2002. *Infectio.* 2003, vol 7 (3); pp 147-152.
11. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of Perinatal Group B *Streptococcal* Disease Revised Guidelines from CDC. 2010; Vol 59 (N° RR – 10): pp. 1 – 23.
12. Montibello S, Guelfand I, y otros. (2011) Optimización de metodologías de cribaje para labúsqueda de *Streptococcus agalactiae* en embarazadas. *Revista Argentina de Microbiología* 3:-8
13. Young BC, et al. (2011). Evaluation of a rapid, real-time intrapartum group B streptococcus assay. *Am J Obstet Gynecol. Oct; 205(4):372.e1-6. Epub 2011 Jun 29.*
14. Bergseng H, Bevanger L, Rygg M, Bergh K.(2007). Real-time PCR targeting the sip gene for detection of group B *Streptococcus* colonization in pregnant women at delivery. *J Med Microbiol. Feb; 56(Pt 2):223-8.*
15. Alfa MJ, Sepehri S, et al. (2010). Real-time PCR assay provides reliable assessment of intrapartum carriage of group B *Streptococcus*. *J Clin Microbiol. Sep;48(9):3095-9. Epub 2010 Jun 30 .*
16. Shi CY, Qu SH, Yang L, et al. (2010).Detection of maternal colonization of group B streptococcus in late pregnancy by real-time polymerase chain reaction and its effect on perinatal outcome]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. Jan;45(1):12-6*
17. Atkins KL, Atkinson RM, et al. (2006). Evaluation of polymerase chain reaction for group B streptococcus detection using an improved culture method. *Obstet Gynecol. Sep;108(3 Pt 1):488-91*
18. Rallu F, Barriga P, et al. (2006). Sensitivities of Antigen Detection and PCR Assays Greatly Increased Compared to That of the Standard Culture

- Method for Screening for Group B Streptococcus Carriage in Pregnant Women. *Journal of Clinical Microbiology*. Mar; 44(3)725-72
19. Tapia JL, Reichard C, Saldías MI, et al: Sepsis Neonatal en la Era de Profilaxis Antimicrobiana Prenatal. *Rev Chil Infect* 2007; 24 (2): 111-6.
 20. Tapia JL, Perret C: Infecciones Bacterianas. En Tapia JL, González A. *Manual de Neonatología*. III Edición, Santiago, Editorial Mediterráneo, año 2008
 21. Ke D, Menard C, Picard FJ, Boissinot M, Ouellette M, Roy PH, et al. Development of conventional and real-time PCR assays for the rapid detection of group Streptococci. *Clin Chem*. 2000;46:324-31.
 22. Dmitriev A, Suvorov A, Shen AD, Yang YH. Clinical Diagnosis of Group B Streptococci by *scpB* gene Based PCR. *Indian J Med Res*. 2004; 119:233-6.
 23. El Aila NA, Tency I, Claeys G, Verstraelen H, Deschaght P, Decat. Comparison of culture with two different qPCR assays for detection of rectovaginal carriage of *Streptococcus agalactiae* (group B streptococci). *Research in Microbiology*. 2011; 162 499-505.
 24. Laczeski M, Pegels E, Oviedo P, Quiroga M, Vergara M. (2014). Molecular profiles and antimicrobial susceptibility of first isolates of *Streptococcus agalactiae* serotype IX in Argentina. *Adv in Microbiol*. 4:317-323.
 25. Gavino M, Wang E. y otros.(2007). A comparison of a new rapid real-time polymerase chain reaction system to traditional culture in determining group B streptococcus colonization. *Am J Obstet Gynecol*. Oct;197(4):388.e1-4
 26. de la Rosa, M., et al. 1992. New Granada medium for detection and identification of group B streptococci. *J. Clin. Microbiol*. 30: 1019-1021.
 27. Jost, C., Bercot, B., Jacquier, H., Raskine, L., Barranger, E., Mouchnino, G., & Cambau, E. (2014). Xpert GBS Assay for Rapid Detection of Group B Streptococcus in Gastric Fluid Samples from Newborns. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(2), 657–659. <http://doi.org/10.1128/JCM.02532-13>
 28. Uhl, J. R., Vetter, E. A., Boldt, K. L., Johnston, B. W., Ramin, K. D., Adams, M. J., Cockerill, F. R. (2005). Use of the Roche LightCycler Strep B Assay for Detection of Group B Streptococcus from Vaginal and Rectal Swabs. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(8), 4046–4051. <http://doi.org/10.1128/JCM.43.8.4046-4051.2005>
 29. Duque, Clara y Col. Perfil de sensibilidad de *S. agalactiae* obtenido a partir de muestras de introito vaginal y región perineal de mujeres gestantes de Medellín. *NOVA Vol .9 No. 15 - Enero - Junio 2011: 1-112 P.P. 31-34*