

Evaluación comparativa de Agar Sangre de Carnero y Agar Sangre Humana en el aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos de pacientes con faringitis del Hospital Almanzor Aguinaga Asenjo de Chiclayo, Perú. 2006.

Comparative evaluation of sheep blood agar and human blood agar in the isolation of beta hemolytic *Streptococcus* of patients with pharyngitis from Almanzor Aguinaga Asenjo hospital of Chiclayo, Perú. 2006.

CHÁVEZ CASTILLO, Milciades¹; LIVIA CÓRDOVA, Giovanna²; MUÑOZ GANOZA, Eduardo³; OTINIANO GARCÍA, Milly⁴; LUJÁN VELÁSQUEZ Manuela⁵ y CASTRO SARABIA, Julio⁶

RESUMEN

Se evaluó comparativamente el Agar sangre de carnero y el Agar sangre humana, en el aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos de pacientes del hospital Almanzor Aguinaga Asenjo de Chiclayo entre Enero y Diciembre del 2006. La investigación se realizó con 242 muestras de pacientes con faringitis, cada muestra fué sembrada en tres placas con Agar sangre humana y en tres placas con Agar sangre de carnero. Las placas de ambos medios fueron distribuidas para ser incubadas paralelamente en tres atmósferas diferentes, en aerobiosis, con 5% de CO₂ y en anaerobiosis. A las colonias macroscópica y microscópicamente compatibles con el género *Streptococcus* se les realizó la prueba de la catalasa, y se las cultivó en caldo Todd-Hewitt. Los aislamientos se identificaron como *Streptococcus* beta hemolíticos por el método de Precipitación de Lancefield, mediante sueros de agrupamiento de especificidad conocida. La evaluación comparativa de los medios de cultivo utilizados demostró, que el Agar sangre humana permite el aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos al igual que el Agar sangre de carnero, puesto que no se encontró una diferencia significativa en la frecuencia de aislamiento entre ambos medios de cultivo. Así mismo se encontró que la incubación anaeróbica permite el mayor número de aislamientos de *Streptococcus* beta hemolíticos tanto en el Agar sangre humana como en el Agar sangre de carnero. También se determinó que la incubación por 48 horas permite el mayor número de aislamientos en ambos medios.

Palabras clave: *Streptococcus* beta hemolíticos, Agar sangre humana, Agar sangre de carnero.

ABSTRACT

It were evaluated comparatively sheep blood agar and human blood agar, in the isolation of beta hemolytic *Streptococcus* of patients from Almanzor Aguinaga Asenjo from Chiclayo between January and December of 2006. The investigation was realized with 242 samples of patients with pharyngitis, every sample was scattered in three plates with human blood agar and in three plates with sheep blood agar. The plates with both mediums were distributed to be incubated paralelaly in three different atmospheres: in aerobiosis, with 5% of CO₂ and in anaerobiosis. The macroscopic and microscopically colonies compatible with *Streptococcus* genus it was realized the catalasa test, and them it was cultivated in Todd – Hewitt broth. The isolations were identified as beta hemolytic *Streptococcus* by the Lancefield Precipitation method, using specificity well known group serum. The comparative evaluation of the used culture mediums demonstrate that, human blood agar allow the isolation of beta hemolytic *Streptococcus* as well as sheep blood agar; although it does not find a significantly difference in the frequency of isolation between both culture mediums. It was found also that the anaerobic incubation allows a high number of isolations of beta hemolytic *Streptococcus* as well as in human blood agar and sheep blood agar. It was determined also that the incubation by 48 hours allows a high number of isolations in both mediums.

Key words: Beta hemolytic *Streptococcus*, Human blood agar, Sheep blood agar.

1. Docente Emérito. Universidad Nacional de Trujillo. email: revistamedica@ucv.edu.pe

2. Maestro en Ciencias. Mención en Microbiología Clínica. Egresada de la Escuela de Postgrado de la U.N.T. email: revistamedica@ucv.edu.pe

3. Docente Universidad Nacional de Trujillo. email: revistamedica@ucv.edu.pe

4. Docente Universidad Nacional de Trujillo. email: revistamedica@ucv.edu.pe

5. Docente Universidad Nacional de Trujillo. email: revistamedica@ucv.edu.pe

6. Egresado de la Escuela Académico Profesional de Microbiología y Parasitología. U.N.T. email: revistamedica@ucv.edu.pe

INTRODUCCIÓN

Los miembros del género *Streptococcus* son la causa de las enfermedades más difundidas y de mayor morbilidad en los seres humanos en todos los tiempos, con la posible excepción del bacilo tuberculoso (1,2,3,4,5,6). Este hecho motivó a los investigadores a realizar trabajos que permitieran su identificación y se determinó que los *Streptococcus* se pueden agrupar, en función de las características antigénicas del carbohidrato C grupo-específico de su pared celular, por lo que el trabajo pionero de Rebeca Lancefield estableció el sistema de agrupación de Lancefield para los *Streptococcus* beta hemolíticos. Este sistema identificó cinco grupos antigénicos de *Streptococcus*, a los que denominó A, B, C, D y E; sin embargo actualmente, se han reconocido aproximadamente 18 grupos, clasificados de A a H y K a T (7,8).

También se determinó que la actividad patógena de los *Streptococcus* es debida a diversas características que contribuyen a su virulencia (1,8,9,10); así como también a la secreción de productos extracelulares, muchos de los cuales tienen un papel real en la virulencia del microorganismo (8,11).

Un factor importante, determinante de la patogenicidad de los *Streptococcus*, es la producción de dos hemolisinas; la estreptolisina O, que es la responsable fundamental de la beta hemólisis que se observa alrededor de las colonias de *Streptococcus* por debajo de la superficie del agar o en las zonas punzadas de agar sangre de carnero de las placas inoculadas y la estreptolisina S, que es la responsable tanto en la hemólisis superficial como por debajo de la superficie cuando los microorganismos se cultivan en agar sangre de carnero (1,7,12).

En consecuencia los *Streptococcus* poseen numerosos factores de virulencia que permiten que estos microorganismos se establezcan en el huésped y de esta manera se asocian con una gran diversidad de procesos patológicos en el hombre (1,2,3,12,13), siendo la faringitis uno de los procesos más comunes y frecuentes de consulta al pediatra, que además no solo es un problema sanitario que afecta a un gran número de niños, sino que supone un costo económico y social importante, con pérdidas de escolaridad del niño y de horas de trabajo de los padres (14); así como el incremento en la incidencia de la fiebre reumática lo que enfatiza la importancia del diagnóstico rápido y preciso de la faringitis por *Streptococcus*

beta hemolíticos del grupo A (15,16).

Para la identificación de aislamiento clínicos de *Streptococcus*, en la mayoría de laboratorios, utilizan un perfil de características morfológicas y metabólicas dentro de las cuales destacan las reacciones hemolíticas en agar sangre de carnero para un agrupamiento preliminar y una identificación presuntiva (8,17,18).

Por esta razón, una de las preocupaciones en el laboratorio de microbiología, se centra en la evaluación de medios de cultivo que permitan el aislamiento microbiano, y al mismo tiempo revelen algunas características inherentes a un microorganismo específico (19,20,21,22,23).

Las variables significativas en este propósito incluyen la selección de medios con agar inhibitorios contra no inhibitorios y las diferentes atmósferas de incubación (15). En 1985 se sugirió el uso de agar sangre de carnero en placa conteniendo cristal violeta, colistin y trimetoprim – sulfametoxazol para realizar el aislamiento de *Streptococcus* del grupo A, y estas observaciones han sido configuradas por algunos investigadores (19,20,21), pero cuestionadas por otros (22,24). En 1995 se observó una clara ventaja de las placas con agar sangre de carnero conteniendo cristal violeta incubadas por 48 horas en el aislamiento de *Streptococcus* del grupo A comparado con el aislamiento en agar sangre de carnero simplemente (16).

Por otro lado existen variantes en el uso de sangre de animales para la preparación del agar sangre, por ejemplo para el aislamiento de *Haemophilus influenzae* se prefiere sangre de caballo por que no tiene efectos inhibitorios sobre factores de crecimiento bacteriano y es una rica fuente de factor X; así mismo se aconseja sangre humana para el aislamiento e identificación de *Gardnerella vaginalis* la que es hemolítica en sangre humana, pero no en Agar sangre de animales (8,18). Observándose que, para el aislamiento de un determinado microorganismo, es necesario considerar que éste puede tener afinidad para un determinado líquido biológico que pueda ofrecerle alguna ventaja y permita su óptimo desarrollo.

Dada la importancia del estudio de los *Streptococcus* beta hemolíticos desde el punto de vista clínico, conociendo las limitaciones que existen para su estudio debido a su fragilidad y

labilidad que los hace de difícil cultivo y teniendo en cuenta que con mucha frecuencia, en los diversos centros de salud, se utiliza el Agar sangre humana en el aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos, el presente trabajo tuvo como objetivo realizar la evaluación comparativa de Agar sangre

de carnero y Agar sangre humana en el aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos incubados en aerobiosis, con 5% de CO₂ y en anaerobiosis, de pacientes con faringitis del Hospital Almanzor Aguinaga Asenjo de Chiclayo, Perú, entre Enero a Diciembre de 2006.

MATERIAL Y MÉTODOS

La población muestral estuvo conformada por todos los pacientes con faringitis que acudieron al Hospital Almanzor Aguinaga Asenjo de Chiclayo entre Enero y Diciembre de 2006. Se incluyeron en el estudio todos aquellos pacientes con signos y síntomas de faringitis sin tratamiento antibiótico previo a la colección de la muestra de garganta, y fueron excluidos aquellos pacientes con faringitis con tratamiento antibiótico y aquellos que acudieron para su control.

Obtención y procesamiento de las muestras:

Los especímenes, compuestos de hisopados de garganta fueron recolectados por duplicado de cada paciente. Una vez obtenida la muestra, los hisopados se colocaron de inmediato en un tubo de ensayo estéril y fueron transportados al Laboratorio de Bacteriología del Dpto. de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional de Trujillo, dentro de 4 – 6 horas siguientes a la toma de muestra.

Una vez que las muestras por duplicado de cada paciente llegó al laboratorio, un hisopado fue inoculado y diseminado por la técnica de la estría en cuatro cuadrantes, en tres placas con Agar Soya Trypticosa con 5% de sangre de carnero, y el segundo hisopado fue inoculado y diseminado por la misma técnica de siembra, en tres placas con Agar Soya Trypticosa con 5% de sangre humana. Las placas de ambos medios fueron distribuidas para ser incubadas paralelamente a 37 °C y en tres atmósferas diferentes: en aerobiosis, en presencia de 5% de CO₂ y anaeróticamente en jarra Gas – Pak; tomando una primera lectura a las 24 horas y una segunda lectura a las 48 horas.

Las colonias pequeñas, puntiformes, translúcidas, beta hemolíticas y que al hacer un examen microscópico con tinción de Gram se observaron cocos dispuestos en cadenas y

grampositivos, fueron catalogadas macroscópica y microscópicamente como compatibles con el género *Streptococcus*. Estas colonias fueron sembradas en caldo Todd Hewitt para obtener cultivos puros y realizar la prueba de la catalasa con la finalidad de descartar micrococos y estafilococos. Estos cultivos puros también se utilizaron para identificar serológicamente *Streptococcus* beta hemolíticos.

Identificación de *Streptococcus* beta hemolíticos:

La identificación de *Streptococcus* beta hemolíticos se realizó serológicamente por el Método estandar de precipitación de Lancefield. Fue necesario cultivos puros de 16 a 24 horas de los *Streptococcus* en estudio en 30 mL. de caldo Todd Hewitt. La extracción de los determinantes antigénicos se realizó mediante la técnica de ácido caliente de Lancefield, para hacerlos reaccionar con el antisuero absorbido de especificidad conocida (Difco). La prueba de precipitación se realizó en tubos capilares, según la técnica de los CDC, en la que el extracto del antígeno se colocó sobre el antisuero específico de grupo. Después de 5 a 10 minutos, un anillo de precipitación en la interface de los dos reactivos, constituyó un resultado positivo para la identificación de *Streptococcus* del grupo A y de *Streptococcus* de otros grupos (8).

Análisis estadístico:

Los datos fueron procesados empleando el paquete estadístico para computadora personal SPSS v. 12.0. Los resultados obtenidos se creyó conveniente presentarlos en cuadros de simple y doble entrada a nivel de frecuencias relativas y absolutas (25). La evaluación comparativa de los medios Agar sangre humana y Agar sangre de carnero se estableció mediante la determinación de la sensibilidad de cada uno de estos medios.

RESULTADOS

De las 242 muestras, 41 de ellas fueron positivas, obteniéndose 41 cultivos de *Streptococcus* beta hemolítico, con una frecuencia de aislamiento de 17% (Tabla 1).

La incubación aeróbica a las 24 y 48 horas en agar sangre humana permitió recuperar 32 y 34 aislamientos respectivamente de *Streptococcus* beta hemolíticos, y en agar sangre de carnero 32 y 33 aislamientos respectivamente (Tabla 2).

La incubación en atmósfera con CO₂ a las 24 y 48 horas en agar de sangre humana permitió recuperar 32 y 34 aislamientos respectivamente y en agar sangre de carnero 33 y 34 aislamientos respectivamente (Tabla 3).

La incubación en atmósfera anaeróbica a las 24 y 48 horas en agar sangre humana permitió recuperar 40 y 41 aislamientos respectivamente y en agar sangre de carnero 40 y 40 aislamientos respectivamente (Tabla 4).

Se determinó que ambos medios presentan una mayor sensibilidad a las 48 horas en incubación anaeróbica, siendo para agar sangre humana de 100% y para agar sangre de carnero de 98% (Tabla 5).

De los 41 cultivos de *Streptococcus* beta hemolíticos aislados, 38 correspondieron a *Streptococcus* beta hemolíticos del grupo A con una frecuencia de 83% y 7 correspondieron a *Streptococcus* beta hemolíticos no grupo A con una frecuencia de 17% (Tabla 6).

Tabla N° 1: Frecuencia de aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos de pacientes con faringitis que acudieron al Hospital Almanzor Aguinaga Asenjo de Chiclayo, Perú. Enero –Diciembre 2006.

AISLAMIENTOS	N°	%
<i>Streptococcus</i> beta hemolíticos	41	17
Otras bacterias (no <i>Streptococcus</i>)	201	83
TOTAL	242	100

Tabla 2: Número de aislamientos de *Streptococcus* beta hemolíticos en agar sangre humana y agar sangre de carnero en atmósfera aeróbica de pacientes con faringitis que acudieron al Hospital Almanzor Aguinaga Asenjo de Chiclayo, Perú. Enero - Diciembre 2006.

MEDIOS DE CULTIVO	N° DE AISLAMIENTOS	
	TIEMPO DE INCUBACIÓN (horas)	
	24	48
Agar sangre humana	32	34
Agar sangre de carnero	32	33

Tabla 3: Número de aislamientos de *Streptococcus* beta hemolíticos en agar sangre humana y agar sangre de carnero en atmósfera con CO₂ de pacientes con faringitis que acudieron al Hospital Almanzor Aguinaga Asenjo de Chiclayo, Perú. Enero - Diciembre 2006.

MEDIOS DE CULTIVO	N° DE AISLAMIENTOS	
	TIEMPO DE INCUBACIÓN (horas)	
	24	48
Agar sangre humana	32	34
Agar sangre de carnero	33	34

Tabla 4: Número de aislamientos de *Streptococcus* beta hemolíticos en agar sangre humana y agar sangre de carnero en atmósfera anaeróbica de pacientes con faringitis que acudieron al Hospital Almanzor Aguinaga Asenjo de Chiclayo, Perú. Enero - Diciembre 2006.

MEDIOS DE CULTIVO	N° DE AISLAMIENTOS	
	TIEMPO DE INCUBACIÓN (horas)	
	24	48
Agar sangre humana	40	41
Agar sangre de carnero	40	40

Tabla 5: Evaluación comparativa de la sensibilidad en porcentaje de agar sangre humana y agar sangre de carnero en el aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos, incubados en tres atmósferas, de pacientes con faringitis que acudieron al Hospital Almanzor Aguinaga Asenjo de Chiclayo, Perú. Enero - Diciembre 2006.

ATMOSFERA DE INCUBACIÓN	TIEMPO DE INCUBACIÓN (horas)	N° DE AISLAMIENTOS		SENSIBILIDAD (%)	
		ASH	ASC	ASH	ASC
AERÓBICA	24	32	32	78	78
	48	34	33	83	80
CO ₂	24	32	33	78	80
	48	34	34	83	83
ANAERÓBICA	24	40	40	98	98
	48	41	40	100	98

ASH:Agar sangre humana
ASC:Agar sangre de carnero

Tabla 6: Frecuencia de aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos del grupo A y no grupo A aislados de pacientes con faringitis que acudieron al Hospital Almanzor Aguinaga Asenjo de Chiclayo, Perú. Enero - Diciembre 2006.

GRUPO	N°	%
<i>Streptococcus</i> beta hemolítico grupo A	38	83
<i>Streptococcus</i> beta hemolítico no grupo A	7	17
TOTAL	41	100

DISCUSIÓN

Muchas técnicas han sido propuestas para incrementar el aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos, incluyendo la incorporación de antibióticos en el medio agar sangre, incubación aeróbica, en presencia de CO₂ y en ausencia de oxígeno (16,19,23). En estas técnicas frecuentemente se utiliza el agar sangre de carnero para el aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos y alternativamente en nuestro medio se utiliza el agar sangre humana en la idea de que permite reflejar las propiedades hemolíticas de los *Streptococcus* para su identificación inicial. Por lo que el personal de laboratorio debe estar advertido acerca de las variaciones en las reacciones hemolíticas que pueden producirse según la especie animal, de la que se obtenga la sangre.

La Tabla 1 muestra que 41 cultivos de *Streptococcus* beta hemolíticos fueron recuperados de procesos faríngeos en una frecuencia de 17%. La importancia de los *Streptococcus* beta hemolíticos radica en que la infección de este grupo bacteriano predispone a cuadros postestreptocócicos como fiebre reumática y glomerulonefritis, que en los últimos tiempos han incrementado su incidencia (3,4,27), razones por las que se invierten esfuerzos en la detección de *Streptococcus* beta hemolíticos, en particular los del grupo A para prevenir sus secuelas potenciales (28).

En incubación aeróbica en agar sangre de carnero y en agar sangre humana (Tabla 2) se

puede observar que el mayor número de aislamientos se alcanzó en el tiempo de incubación de 48 horas, así en agar sangre de carnero se obtuvo 33 aislamientos con una frecuencia de 80% y en agar sangre humana 34 aislamientos con una frecuencia de 83% (Tabla 5). Estos resultados se deberían a que los *Streptococcus* producen dos tipos de hemolisinas, una de ellas ejerce su función en presencia de oxígeno y se conoce como estreptolisina S (8), sin embargo se considera que el 2% de los *Streptococcus* beta hemolíticos del grupo A no producen estreptolisina S y pueden perderse en cultivos incubados en atmósfera aeróbica (8), lo que explicaría la obtención de estos resultados en comparación con el mayor número de aislamientos obtenidos en atmósfera anaeróbica (Tabla 4).

En incubación en atmósfera con CO₂ podemos observar que, en el tiempo de incubación de 48 horas se obtuvo el mayor número de aislamientos (Tabla 3); así tanto en el agar sangre humana como en el agar sangre de carnero, se recuperaron 34 cultivos de *Streptococcus* beta hemolíticos con una frecuencia de 83% (Tabla 5) para ambos medios. También se puede notar un ligero incremento en la recuperación de *Streptococcus* beta hemolíticos en agar sangre de carnero, en comparación con la incubación aeróbica lo que podría ser explicado por qué el CO₂ permite recuperar los *Streptococcus* beta hemolíticos más exigentes (29).

El aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos, cuando la incubación se hace en atmósfera anaeróbica (Tabla 4), aumentó en ambos medios, encontrándose que a las 48 horas de

incubación se recuperó el mayor número de aislamientos; así en agar sangre humana se aisló 41 cultivos con una frecuencia del 100% y en agar sangre de carnero se aisló 40 cultivos con una frecuencia de 98% (Tabla 5). Estos resultados concuerdan con la mayoría de los trabajos realizados en relación a la evaluación del agar sangre de carnero, donde encontraron que la recuperación óptima de *Streptococcus* beta hemolíticos se da en atmósfera anaeróbica y a las 48 horas de incubación (8,16,19,23). Esto probablemente tenga relación con la producción de estreptolisina O, que tiene su acción en ausencia de oxígeno, lo que incrementaría la hemólisis de las colonias de *Streptococcus* en atmósfera anaeróbica; condiciones que también podrían ocurrir en agar sangre humana incrementando su porcentaje de aislamiento.

En el presente estudio se encontró que no existe diferencia significativa en el aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos, en los medios evaluados, por lo que se propone, que no solamente el agar sangre de carnero puede ser utilizado en la recuperación de *Streptococcus* beta hemolíticos sino también el agar sangre humana.

De los 41 cultivos de *Streptococcus* beta hemolíticos aislados 38 pertenecen al grupo A con una frecuencia del 83% y los 7 restantes con una frecuencia del 17% pertenecen a *Streptococcus* beta hemolíticos no grupo A (Tabla 6); lo que concuerda con los datos epidemiológicos encontrados, ya que éstos son causantes de faringitis sintomática y se caracterizan por su elevada frecuencia (8,17,18,19,23,29).

CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos en el presente estudio se concluye:

- El agar sangre humana permite el aislamiento de *Streptococcus* beta hemolíticos al igual que el agar sangre de carnero, puesto que no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre ambos medios.

- La incubación anaeróbica permitió recuperar el mayor número de *Streptococcus* beta hemolíticos tanto en el agar sangre humana como en el agar sangre de carnero.
- La extensión del período de incubación a 48 horas, permitió aislar el mayor número de *Streptococcus* beta hemolíticos en ambos medios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brooks G, Butel J, Morse S. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 16ª ed. México. Edit. El Manual Moderno S.A. 1999
2. Edmond K, Grinwood K, Carlin J, Chondros P, Hogg G, Barnett P. Streptococcal pharyngitis in a pediatric emergency department. Medical Journal Australia. 1996. 165 (8): 56-58.
3. Fernandez A, Pinto M, Vidal A. Aislamiento de *Streptococcus* beta hemolítico grupo C y G en infección humana. Rev. Chilena de Infectología. 1998. 5(1): 24-30.
4. Gubbay L, Galanternik L, Nogales M, Ellis A, Woloj M. Faringitis estreptocócicas en pediatría: Frecuencia de los distintos *Streptococcus* beta hemolíticos. Infectología y Microbiología Clínica. 1994. 6(1): 22-32.
5. Lennette E, Spaulding E, Truant J. Manual de Microbiología Clínica. 2ª ed. Barcelona (España). Edit.

- Salvat S.A. 1994
6. Moreira T, Plotkowski M, Suassuna J. Testes fisiologicas para a diferenciacao de betahemolíticos de interesse humano. *Revista Brasileira de Patología Clínica*. 1985. 21(6): 180-193.
 7. Finegold S, Baron E. *Diagnóstico Microbiológico*. 7ª ed. Buenos Aires. Edit. Médica Panamericana S.A. 1991.
 8. Koneman E, Allen S, Janda W, Shreckenber P, Winn W. *Diagnóstico Microbiológico*. 5ª ed. Buenos Aires. Edit. Médica Panamericana. 1999.
 9. Kaufhold A, Podbielski A, Jonson D. M protein gene typing of *Streptococcus pyogenes* by non-radioactively labeled oligonucleotide probes. *J. Clin. Microbiol.* 1992. 30: 2391-2394.
 10. Pruksakorn S, Currie B, Brandt E. Towards a vaccine for rheumatic fever: Identification of a conserved target epitope on M protein of group A *Streptococci*. *Lancet*. 1994. 344: 639-642.
 11. Schlievert, P. Role of superantigens in human disease. *J. Infect. Dis.* 1993. 167: 997-1002.
 12. García J, Picazo J. *Microbiología Médica*, Tomo I. Madrid (España). Edit. Mosby. 1996.
 13. Félix R, García C, Navarro L. Incidencia de *Streptococcus beta hemolíticos* en una población infantil. *Revista del Servicio de las Fuerzas Policiales*. 1985 46(1): 56-58.
 14. Ruiz J. 2002. Diagnóstico y tratamiento de la faringitis aguda. <http://www.Aepag.org>.
 15. Kellogg, J. Suitability of throat cultura procedures for detection of group A streptococci and reference standards for evaluation of Streptococcal antigen detection kits. *J. Clin. Microbiol.* 1990. 28:165-169.
 16. Pacifico L, Ranuci A, Ravagnan G, Chiesa C. Relative value of selective group A Streptococcal agar incubated under different atmospheres. *J. Clin. Microbiol.* 1995. 33 (9): 2480-2482.
 17. Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. *Microbiología Médica*. 15ª ed. México D. F. Edit. El Manual Moderno S.A. 1996.
 18. Mims C, Playfair J, Roitt J, Wakelin D, Williams R, Anderson R. *Microbiología Médica*. Madrid. España Edit. Mosby-Doyma Libros. 1995.
 19. Bellon J, Weise B, Verschraegen G, de Meyere M. Selective streptococcal agar versus blood agar for detection of group a beta hemolytic *Streptococci* in patients with acute pharyngitis. *J. Clin. Microbiol.* 1991. 29(9): 2511-2515.
 20. Carlson J, Merz W, Hansen B, Ruth S, Moore D. Improved recovery of group A beta hemolytic *Streptococci* with a new selective médium. *J. Clin. Microbiol.* 1985. 21:307-309.
 21. Grahon L, Meier F, Centor R, Graner B, Dalton H. Effect of médium and sultivation conditions on comparisons between latex agglutination and cultura detection of group A *Streptococci*. *J. Clin. Microbiol.* 1986. 24: 644-646.
 22. Huck W, Reed B, French T, Mitchell R. Comparison of the directigen 1-2-3 group A Strep test with cultura for detection os group A beta hemolytic *Streptococci*. *J. Clin. Microbiol.* 1989. 27: 1715-1718.
 23. Laver B, Reller L, Mirrett S. Effect of atmosphere and duration on primary isolation of group A *Streptococci* from throat cultures. *J. Clin. Microbiol.* 1983. 17 (2): 338-340.
 24. Roddey O, Clegg H, Clardy L, Martin E, Swetenburg R. Comparison of a latex agglutination test and four cultura methods for identification of group A *Streptococci* in a pediatric office laboratory. *J. Pediatr.* 1986. 108:347-351.
 25. Steel R, Torrie J. *Bioestadística: Principios y procedimientos*. 2ª ed. México D. F. Edit. Mac Graw-Hill. 1988.
 26. Joklik W, Willer H, Amos D. *Zinsser Microbiología*. 18ª ed. Buenos Aires. Argentina Edit. Médica panamericana S. A. 1987
 27. Kaplan E, Kreutzer E, Viegas C, Cuttica E. *Streptococcus beta hemolíticos aislados en Buenos Aires y su relevancia en la epidemiología de las infecciones estreptocócicas, fiebre reumática y glomerulonefritis*. *Revista Latinoamericana de Cardiología Circulatoria y Cardiovascular Infantil*. 1985. 1(4): 246-251.
 28. Bisno A, Collins C, Turner J. Proteins of group C *Streptococci* isolated from patients with acute pharyngitis. *Journal of clinical Microbiology*. 1996. 34 (19): 2511-2515.
 29. Murray P, Wold A, Schreck C, Washington J. Effects of selective media and atmosphere of incubation on the isolation of group A *Streptococci*. *J. Clin. Microbiol.* 1976. 4(1): 54-56.

RECIBIDO: 04.09.2007 ■ ACEPTADO: 05.10.2007
