

muestras respiratorias días antes de fallecer. Se enviaron las cepas al Instituto de Salud Carlos III para tipificación por métodos moleculares. Los 2 aislamientos se trataban de la misma cepa de *L. pneumophila* serogrupo 1 serotipo Pontiac. Esto sugería que se trataba de una reactivación, aunque no se puede descartar una reinfección por la misma cepa.

El diagnóstico de laboratorio de la infección por *Legionella* spp., debería basarse en la detección del antígeno urinario combinado con una PCR en muestra respiratoria o plasma. Aunque el cultivo de muestras respiratorias es necesario para estudios epidemiológicos, esta podría ser la mejor estrategia diagnóstica inicial, que proporcionaría la máxima sensibilidad y especificidad para detectar *L. pneumophila*. Además, permitiría tener resultados en pocas horas que orientaría a un manejo clínico adecuado. Debido a que una vez iniciado el tratamiento antimicrobiano el cultivo de *L. pneumophila* puede ser negativo y a que la detección de antígeno en orina puede mantenerse positiva durante un año, la PCR a tiempo real se presenta como una posible herramienta para la monitorización de pacientes con legionelosis.

Bibliografía

1. Edelstein PH, Cianciotto NP. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editores. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6 ed. Madrid: Elsevier; 2006. p. 2711-21.

doi:10.1016/j.eimc.2009.10.004

2. Uhl JR, Qian X, Hopkins MK, Aubry MC, Limper AH, Lloyd RV, et al. Direct detection of Legionella species from bronchoalveolar lavage and open lung biopsy specimens: comparison of LightCycler PCR, in situ hybridization, direct fluorescence antigen detection, and culture. J Clin Microbiol. 2001;39:2618-26.
3. Pelaz C. Diagnóstico microbiológico y control de la legionelosis. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica. <http://www.seimc.org/>.
4. Caylà JA. Consideraciones prácticas en la investigación de las legionelosis. Enfermedades Emergentes. 2000;2:200-1.
5. Reischl U, Linde HJ, Lehn N, Landt O, Barratt K, Wellinghausen N. Direct detection and differentiation of Legionella spp and Legionella pneumophila in clinical specimens by dual-color real-time PCR and melting curve analysis. J Clin Microbiol. 2002;40:3814-7.
6. Diederer BM, de Jong CM, Kluytmans JA, van der Zee A, Peeters MF. Detection and quantification of Legionella pneumophila DNA in serum: case reports and review of the literature. J Med Microbiol. 2006;55:639-42.

María Eugenia Portillo*, Gabriel Reina, Miriam Fernández-Alonso y José Leiva

Servicio de Microbiología Clínica, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, Navarra, España

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: meporillo@unav.es (M.E. Portillo).

Utilización del medio CHROMagar orientation en la detección de Streptococcus agalactiae en gestantes

Evaluation of chromagar orientation medium for the detection of streptococcus agalactiae in pregnant women

Sr. Editor:

Streptococcus agalactiae (estreptococo del grupo B [EGB]) es la causa más frecuente de infección neonatal precoz. La transmisión al recién nacido ocurre durante el parto, a partir de la colonización materna por EGB en vagina y/o recto¹. Esta colonización puede ser transitoria, crónica o intermitente, y afecta del 10 al 30% de las gestantes². En 2002, el Centro de Control y Prevención de Enfermedades de Atlanta (CDC) actualizó sus recomendaciones² para la prevención de la enfermedad perinatal por EGB. En nuestro laboratorio seguimos este protocolo.

Al introducir el medio CHROMagar orientation (CHR) en la rutina de urocultivos, observamos que las colonias de EGB mostraban una morfología típica (colonias pequeñas de color azul muy claro) y que eran fácilmente distinguibles en cultivos mixtos. Si bien este medio fue diseñado por el fabricante para la detección de patógenos urinarios habituales, quisimos evaluar la sensibilidad de este frente al medio de AGAR sangre (AS) en la detección de EGB. Durante un periodo de 6 meses (de febrero a julio de 2008) se realizó un estudio prospectivo de las muestras de mujeres gestantes (escobillones vaginales o rectovaginales) recibidas en nuestro laboratorio para estudio de colonización por EGB. El medio de transporte utilizado fue el Amies. Las muestras se sembraron en caldo Todd-Hewitt con gentamicina, ácido nalidíxico y sangre (S.M.B. broth, Biomerieux®) que tras incubación en atmósfera con un 5% de CO₂ durante 18 a 24 h a 37 °C, se subcultivaron en placas de medio AS de carnero (TSA-S:

Becton-Dickinson®) y en CHR (Becton-Dickinson®). A las 24 h de incubación cada medio de cultivo fue examinado por un observador diferente. La identificación de las colonias sospechosas de EGB (en AS: colonias beta hemolíticas y morfología típica, y en CHR: colonias pequeñas azul claro) se realizó mediante aglutinación (Slidex® Strepto Plus B: BioMérieux®). Al final del día se comparaban los resultados de ambos observadores y las discrepancias se resolvían con la identificación bioquímica mediante el sistema viteK 2 (Biomerieux®).

Se procesaron 1.003 muestras: 186 vaginales y 817 rectovaginales, pertenecientes a 1.003 mujeres. Se aisló EGB en 205 embarazadas, lo que supone un 20% de colonización. Del total de EGB detectados, 178 se aislaron en medio de AS y 194 en CHR (tabla 1). Lo que supone un porcentaje de colonización del 19,3% utilizando el medio CHR frente al 17,7% con el AS. Encontramos que el CHR tiene una sensibilidad del 94,6% frente al 86,8% del AS en la detección del EGB.

El porcentaje de colonización por EGB del 20% que encontramos es similar al descrito con anterioridad por otros autores^{1,3,5-7}. En el mercado hay una oferta muy amplia de medios de

Tabla 1
Recuperación de EGB según el medio de cultivo utilizado*

Agar sangre	CHROMagar orientation		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	167	11	178
Negativo	27	798	825
Total	194	809	1.003

* Sensibilidad AS: 178/205 (86,82%), CHR: 194/205 (94,6%).

cultivo para la detección de EGB y son numerosos los estudios^{1,3-5} que evalúan su validez. Los resultados obtenidos en este estudio permiten concluir que este medio es una buena alternativa al AS para el subcultivo del caldo Todd-Hewitt, ya que recupera un porcentaje mayor de EGB. Pensamos que esto es debido a que el aspecto característico que presentan las colonias en CHR nos permite recuperar aquellas cepas cuya hemólisis pasa desapercibida en cultivos mixtos o las que carezcan de ella. Creemos que una vez adquirida la destreza en la detección de EGB en este medio, pocas veces sería necesaria la aglutinación posterior de las colonias, ya que las sospechas de EGB siempre se confirmaron en nuestros aislados. A partir de los resultados obtenidos en este estudio, hemos sustituido en nuestro protocolo el AS por el CHR en la detección de EGB.

Bibliografía

1. Busetti M, D'Agaro P, Campello C. Group B streptococcus prevalence in pregnant women from North-Eastern Italy: advantages of a screening strategy based on direct plating plus broth enrichment. *J Clin Pathol.* 2007;60:1140-3.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: MMWR 2002;51:1-22.
3. Martinho F, Prieto E, Pinto D, Castro RM, Morais AM, Salgado L, et al. Evaluation of liquid biphasic Granada medium and instant liquid biphasic Granada

medium for group B streptococcus detection. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26:69-71.

4. Díaz TM, Nieves BM. Comparación de medios de cultivos y procedimientos para detectar colonización por *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas. *Rev Chil Infect.* 2008;25:108-13.
5. Church DL, Baxter H, Lloyd T, Miller B, Elsayed S. Evaluation of StrepB carrot broth versus Lim broth for detection of group B streptococcus colonization status or near-term pregnant women. *J Clin Microbiol.* 2008;46:2780-2.
6. Adler A, Block C, Engelstein D, Hochner-Celnikier D, Drai-Hassid R, Moses AE. Culture-based methods for detection and identification of *Streptococcus agalactiae* in pregnant women-what are we missing? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2008;27:241-3.
7. Elsayed S, Gregson DB, Church DL. 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.

Susana Sabater*, Rosario Moreno, Ana Campos y Francisco Javier Pardo

Laboratorio de Microbiología, Hospital General de Castellón, Castellón, España

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: sabater_sus@gva.es (S. Sabater).

doi:10.1016/j.eimc.2009.11.006

Evaluación de una nueva técnica de aglutinación por látex para el serotipado de cepas de *Streptococcus pneumoniae* cubiertas por la vacuna conjugada 7-valente

Evaluation of a new latex agglutination test for serotyping of Streptococcus pneumoniae strains covered by the 7-valent conjugate vaccine

Sr. Editor:

La Organización Mundial de la Salud recomienda implantar sistemas específicos de vigilancia de la evolución de serotipos de *Streptococcus pneumoniae* en aquellas regiones donde se ha instaurado la vacunación¹. En la actualidad se conocen 92 serotipos de neumococo^{2,3} encuadrados en 46 serogrupos. La nomenclatura para su clasificación viene definida por un número (que designa el serogrupo) y, en ocasiones, por una letra mayúscula (para serogrupos con varios serotipos). El método de referencia para el serotipado de *S. pneumoniae* es el test de Quellung⁴. Consiste en una reacción de precipitación entre antisueros específicos y el antígeno polisacárido de la bacteria que hace visible microscópicamente su cápsula. Debido a su laboriosidad y subjetividad suele efectuarse en laboratorios especializados. En la actualidad se dispone de una técnica de aglutinación por látex (Pneumotest-Latex; Statens Serum Institut, Dinamarca) para el serogrupado/serotipado parcial de neumococo⁵. Esta técnica llega a identificar 8 serotipos (en los que el serotipo y serogrupo coinciden) y, aunque en el resto sólo se consigue la identificación a nivel de serogrupo o conjunto de serogrupos, puede resultar muy útil como método inicial de tipado⁶. La inmunidad generada por la vacunación es específica de serotipo⁷. Por ello en los sistemas de vigilancia de la enfermedad neumocócica la matización entre serotipo y serogrupo es un aspecto trascendental⁸. Recientemente se ha lanzado una nueva versión del método de aglutinación por látex (Pneumococcus 7-valent Latex Kit [P7VLK]; Statens Serum Institut) especialmente

diseñada para detectar e identificar los serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F, incluidos en la vacuna conjugada 7 valente (VC7V). Esta técnica incluye un pool común de antisueros frente a los 7 polisacáridos vacunales y las suspensiones individuales de cada tipo o factor. El objetivo de este estudio fue evaluar esta nueva técnica. Se empleó una colección de 111 cepas invasoras de *S. pneumoniae* que habían sido previamente serogrupadas/serotipadas mediante Pneumotest-látex con confirmación de factores específicos de serotipo por el test de Quellung. Las cepas fueron seleccionadas por corresponder a serotipos cubiertos por la VC7V (n=56), por pertenecer a serotipos relacionados pero no cubiertos por la VC7V (serotipos 6A, 7F, 9N, 18F, 19A, 23A y 23B; n=35) o por tratarse de otros serotipos no incluidos en la VC7V pero que son frecuentes en nuestro entorno⁸ (serotipos 1, 3, 5 y 8; n=20). Las determinaciones con P7VLK, se realizaron siguiendo las recomendaciones del fabricante. La tabla 1 muestra los resultados de serotipado obtenidos con P7VLK. Esta técnica resultó muy específica para detección de cepas cubiertas por la VC7V. Sin embargo, 9 de las 56 cepas cubiertas por la VC7V no fueron correctamente serotipadas (sensibilidad 83,9%). Cinco de estas cepas no fueron detectadas como serotipos VC7V (resultados falsos negativos con el pool común frente a polisacáridos vacunales). Las otras 4 cepas sí fueron detectadas como vacunales (resultados positivos con el pool común frente a los 7 polisacáridos) pero no fueron identificadas correctamente a nivel de serotipo. Los fallos se dieron en cepas de los serotipos 18C, 19F, 9V y 6B. Dada su sencillez esta técnica quizá pudiera aplicarse en la investigación rápida y preliminar de fracasos de la VC7V (la detección de un fallo por esta vacuna muy posiblemente sea cierta) en laboratorios que carezcan de un sistema más completo de serotipado. No obstante, su falta de sensibilidad para la detección de ciertos serotipos (especialmente 19F y 18C) y las reacciones cruzadas entre otros (especialmente 6B y 9V) restringen su uso como método definitivo de despistaje (algunos fracasos vacunales podrían pasar desapercibidos o ser equívocamente atribuidos a otros serotipos). El inminente