

Género *Streptococcus*: una revisión práctica para el laboratorio de microbiología

Milagrosa Montes y José María García-Arenzana

Servicio de Microbiología. Hospital Donostia. San Sebastián. Guipúzcoa. España.

El género *Streptococcus* es un grupo muy numeroso y heterogéneo de bacterias, algunas de las cuales son importantes patógenos para el ser humano. En el presente artículo revisaremos la nomenclatura, la clasificación y los métodos para identificar a las distintas especies del género *Streptococcus*, desde el punto de vista del trabajo habitual en un laboratorio de microbiología clínica. Las especies de estreptococos más frecuentemente patógenas en humanos (cepas beta-hemolíticas y *Streptococcus pneumoniae*) pueden identificarse fácilmente usando unas pocas pruebas fenotípicas y bioquímicas. Algunas especies, en cambio, son difíciles de identificar, incluso mediante técnicas moleculares basadas en el análisis del gen *16SrRNA*.

Palabras clave: *Streptococcus*. Estreptococos. Identificación. Clasificación.

The *Streptococcus* genus: a practical review for the microbiology laboratory

The *Streptococcus* genus consists of a numerous and heterogeneous group of bacteria, some of which are important human pathogens. The present article reviews the current nomenclature and classification of the distinct species of the *Streptococcus* genus, as well as the methods used for their identification in the routine activity of clinical microbiology laboratories. The most frequent *Streptococcus* species acting as human pathogens (beta-hemolytic strains and *Streptococcus pneumoniae*) can be easily identified by using a few phenotypic and biochemical tests. However, some *Streptococcus* strains are difficult to identify, even using molecular techniques based on analysis of the *16S rRNA* gene.

Key words: *Streptococcus*. Streptococci. Identification. Classification.

Introducción

El género *Streptococcus* ha sido objeto de numerosas revisiones en la literatura científica, y su nomenclatura ha sido modificada con frecuencia; son varias las especies que se han transferido de un subgrupo a otro, se han añadido o se han redefinido. En estos últimos años, con la aplicación de técnicas moleculares, la taxonomía y la clasificación del género han sufrido algunas modificaciones. Muchas especies son difíciles de diferenciar por sus características fenotípicas, algunas sólo se pueden identificar empleando técnicas moleculares, e incluso hay casos en que ni siquiera así se puede llegar a una identificación completa y segura. En el presente documento trataremos sobre los métodos para identificar las distintas especies del género *Streptococcus*, especialmente las relacionadas con afecciones en los humanos. No trataremos el género *Enterococcus* ni los denominados antiguamente como “estreptococos nutricionalmente variables”, que actualmente se clasifican en 2 nuevos géneros: *Abiotrophia* y *Granulicatella*.

El género *Streptococcus* es un grupo muy heterogéneo, formado por bacterias de forma redondeada, grampositivas, con tendencia a formar cadenas o parejas, que se hallan ampliamente distribuidas en la naturaleza. Hay especies que son importantes patógenos para el ser humano, pero la mayoría son comensales, miembros de la microbiota normal humana de piel y mucosas.

Los estreptococos son descritos en el *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*¹ como bacterias que forman células ovoides o esféricas, de menos de 2 µm de diámetro, grampositivas, catalasa negativas, anaerobias facultativas, con tendencia a formar cadenas o parejas. Fermentan la glucosa produciendo ácido láctico. El contenido de guanina y citosina (G + C) del ADN está entre 34 y 46 mol%. Las distintas especies del género *Streptococcus*, excepto *S. thermophilus*, crecen bien en medios enriquecidos con sangre, suero o carbohidratos, a 35-37 °C, especialmente si son incubados en una atmósfera con dióxido de carbono al 5-7%. Algunas especies, incluso necesitan el CO₂ para crecer, como algunos *S. pneumoniae* y ciertos estreptococos del grupo viridans. Muchos estreptococos, el neumococo entre ellos, crecen mejor en condiciones anaerobias. En general, las colonias de los estreptococos en agar sangre no son pigmentadas. La característica de algunas especies es formar colonias grandes, mientras que otras forman colonias pequeñas (colonias puntiformes o *minute*, menores de 0,5 mm de diámetro).

Correspondencia: Dr. J.M. García-Arenzana Anguera.
Servicio de Microbiología. Hospital Donostia.
Paseo Dr. Beguiristain, s/n. 20014 San Sebastián. Guipúzcoa. España.
Correo electrónico: arenzana@chdo.osakidetza.net

Clasificación

Basándonos en la secuencia del gen *16SrRNA*, los estreptococos se clasifican en 5 grandes grupos² (tabla 1):

1. **Grupo piogénico:** formado principalmente por especies beta-hemolíticas, de colonias grandes, y que incluye especies que son patógenos importantes para el ser humano.

2. **Grupo mitis:** incluye al patógeno neumococo (*S. pneumoniae*) y a otros estreptococos habituales de la cavidad oral, que producen alfa-hemólisis en agar sangre.

3. **Grupo anginosus o milleri:** formado por especies que se encuentran en la cavidad oral humana, en el tracto genital y gastrointestinal, con colonias de tamaño pequeño y característico olor a caramelo.

4. **Grupo salivarius:** incluye 3 especies de estreptococos genotípicamente relacionados, que normalmente se encuentran en la cavidad oral humana: *S. vestibularis*, *S. salivarius* y *S. thermophilus*. El último de ellos se relaciona con productos lácteos. Todos los miembros del grupo son Voges-Proskauer positivos y no fermentan la arginina, el manitol ni el sorbitol.

5. **Grupo bovis:** formado por especies que principalmente habitan en el canal intestinal de los animales y que, en ocasiones, infectan a humanos. Pertenecen al grupo D de Lancefield.

Además de estos 5 grupos, existe otro denominado “grupo mutans” que engloba 8 especies que no están incluidas en los grupos mencionados anteriormente, y que son genéticamente diversas, aunque fenotípicamente similares. En este grupo hay especies relacionadas con la producción de la caries dental.

Otra denominación muy utilizada entre los microbiólogos es el término estreptococos del “grupo viridans”, que no incluimos en la tabla porque engloba a muchos de los estreptococos de los grupos antes citados. Haremos un comentario posterior. También existen estreptococos no in-

cluidos en ninguna de las denominaciones anteriores y poco conocidos por su escasa participación en infecciones en humanos, que denominamos “otros estreptococos” a los efectos de esta revisión.

Una prueba tan sencilla como la tinción de Gram es muy útil: observar en el microscopio cocos grampositivos con tendencia a formar cadenas o diplococos lanceolados orienta hacia el género *Streptococcus*. Además, a diferencia del género *Staphylococcus*, no producen catalasa (no genera burbujas al mezclarse una colonia con agua oxigenada en un tubo o portaobjetos), ni crecen en medios hipersalinos como el medio de Chapman (con 6,5% de NaCl). Posteriormente, mediante otras pruebas bioquímicas, empleando galerías comerciales que incluyen varias pruebas como API 20 Strept o Rapid ID 32 STREP o VITEK 2 (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, Francia), mediante pruebas de sensibilidad a determinadas sustancias, por detección de antígenos o por precipitación de la cápsula, se puede llegar a la identificación de la mayoría de las especies causantes de enfermedades en humanos.

Clasificar a los estreptococos en función de la hemólisis, aunque tiene sus limitaciones, es un buen marcador para reconocer los aislamientos clínicos, ya que los principales patógenos humanos entre los estreptococos son los beta-hemolíticos, pertenecientes a los grupos A y B, y el neumococo (alfahemolítico). Algunos estreptococos en agar sangre inducen un halo de hemólisis completa alrededor de la colonia (beta-hemólisis); otros inducen una zona de coloración verdosa (alfahemólisis), y otros estreptococos no inducen ningún cambio (colonias no hemolíticas o gamma-hemolíticas). La beta-hemólisis está producida por hemolisinas, mientras que la alfa-hemólisis se debe a la liberación de peróxido de hidrógeno desde la colonia, lo que produce una oxidación de la hemoglobina en metahemoglobina. Para estudiar la hemólisis producida por los estreptococos, algunos factores, como las condiciones de incubación y el origen de la sangre empleada en la fabricación de las placas, son determinantes y pueden hacer que varíen los patrones hemolíticos.

TABLA 1. Clasificación de las especies del género *Streptococcus* basándose en la secuencia del gen *16SrRNA*

Grupo piogénico	Grupo mitis	Grupo anginosus	Grupo salivarius	Grupo bovis	Grupo mutans	Otros estreptococos
<i>S. pyogenes</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. anginosus</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. equinus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. suis</i>
<i>S. agalactiae</i>	<i>S. oralis</i>	<i>S. constellatus</i>	<i>S. vestibularis</i>	<i>S. alactolyticus</i>	<i>S. sobrinus</i>	<i>S. intestinales</i>
<i>S. disgalactiae</i> spp. <i>dysgalactiae</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>S. gallolyticus</i> spp. <i>gallolyticus</i>	<i>S. ratus</i>	<i>S. entericus</i>
<i>S. disgalactiae</i> spp. <i>equisimilis</i>	<i>S. sanguis</i>			<i>S. gallolyticus</i> spp. <i>macedonicus</i>	<i>S. cricetus</i>	<i>S. acidominimus</i>
<i>S. canis</i>	<i>S. gordonii</i>			<i>S. pasteurianus</i>	<i>S. downei</i>	<i>S. gallinaceus</i>
<i>S. equi</i> spp. <i>equi</i>	<i>S. parasanguis</i>			<i>S. lutetiensis</i>	<i>S. ferus</i>	<i>S. thoraltensis</i>
<i>S. equi</i> spp. <i>zooepidemicus</i>	<i>S. crista</i>			<i>S. infantarius</i>	<i>S. macacae</i>	<i>S. pluranimalium</i>
<i>S. uberis</i>	<i>S. australis</i>				<i>S. orisratti</i>	<i>S. hyovaginalis</i>
<i>S. parauberis</i>	<i>S. infantis</i>					<i>S. ovis</i>
<i>S. hyointestinalis</i>	<i>S. peroris</i>					
<i>S. iniae</i>	<i>S. sinensis</i>					
<i>S. didelphis</i>						
<i>S. phocae</i>						
<i>S. porcinus</i>						
<i>S. urinalis</i>						

Lancefield³, en 1933, hizo una primera clasificación de los estreptococos basándose en las reacciones serológicas de los carbohidratos de la pared celular. Parece un método útil para clasificar a muchos de los estreptococos patógenos, pero es muy poco útil para el resto, ya que los antígenos específicos de grupo pueden estar ausentes o especies de distintos taxa pueden compartir idénticos antígenos. La detección de los antígenos de Lancefield entre los estreptococos no beta-hemolíticos es de escaso valor. Esos antígenos de Lancefield son llamados con letras desde la A hasta la W, con la excepción de la I y la J. Estos antígenos de grupo se pueden demostrar mediante diferentes métodos (precipitación, aglutinación, anticuerpos marcados, etc.). La técnica más empleada es la aglutinación mediante métodos comerciales de extracción rápida de antígenos que caracterizan, principalmente, estreptococos beta-hemolíticos de los grupos A, B, C, F y G. El antígeno del grupo D, que es un ácido teicoico, está asociado a varias especies del grupo bovis y a todas las bacterias del género *Enterococcus*, que antiguamente se clasificaban en el género *Streptococcus*. Los aislamientos beta-hemolíticos de los grupos Lancefield A, C, F y G pueden subdividirse en 2 grupos: formadores de colonias grandes (> 0,5 mm de diámetro) y formadores de colonias pequeñas (< 0,5 mm de diámetro). Los primeros pertenecen al grupo piogénico y los segundos al grupo anginosus o milleri. Estos últimos se caracterizan por tener la prueba de Voges-Proskauer positiva.

Tanto en *S. pyogenes*, por la gran diversidad de antígenos de proteína T y M de la pared, como en *S. pneumoniae* y *S. agalactiae*, por la composición de los polisacáridos de la cápsula, existen diferentes tipos de cepas (serotipos, genotipos), lo cual tiene gran repercusión en la epidemiología de la infección causada por ellas, así como en el desarrollo de vacunas.

A continuación, detallaremos las características más importantes para la correcta identificación de los estreptococos más frecuentemente aislados en un laboratorio de microbiología clínica.

Grupo piogénico

Trece especies componen el grupo piogénico de estreptococos; la mayoría de ellos son beta-hemolíticos. Todos forman colonias grandes (> 0,5 mm de diámetro) y reaccionan con varios grupos de Lancefield. *S. pyogenes* y *S. agalactiae* son las 2 especies más representativas del grupo y con menos problemas de identificación taxonómica. Existen variantes no hemolíticas de *S. pyogenes* y de *S. agalactiae*⁴.

S. pyogenes no presenta grandes problemas en su identificación. Se trata de colonias beta-hemolíticas, que generalmente son sensibles a la bacitracina (cualquier halo de inhibición con el disco de 0,04 U de bacitracina), aunque se han descrito cepas resistentes a este compuesto (halo de 0 mm o concentración mínima inhibitoria > 4 µg/ml)^{5,6}. Aglutinan con el antígeno del grupo A de Lancefield y son pirrolidónil aril amidasa (PYR) positivas (existen pruebas rápidas comerciales), lo que los diferencia del resto de estreptococos beta-hemolíticos, ya que sólo son PYR positivas las bacterias del género *Enterococcus* y algunos otros estreptococos muy raramente encontrados en los humanos (como *S. porcinus* o *S. iniae*).

Mediante pruebas comerciales rápidas (p. ej., Quick-Vue® In-Line, Quidel Corporation, EE. UU., y otros) se pueden detectar directamente en la muestra clínica (exudado faríngeo) antígenos de estreptococos del grupo A en aproximadamente 10 min. La especificidad es muy alta (> 95%) pero la sensibilidad depende de la cantidad de estreptococos que haya en la muestra, aunque realizada en condiciones ideales suele ser en torno al 80%.

El principal factor de virulencia de *S. pyogenes* es el antígeno de proteína M. Hoy día, el *emm*-tipo, la forma de clasificación más habitual de esta bacteria, se obtiene mediante secuenciación del gen que codifica la región hipervariable de la proteína M; hay más de 120 *emm*-tipos en *S. pyogenes* (para más información, se puede consultar en la página web de los Centers for Disease Control (CDC): http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/protocol_emm-type.htm)⁷.

S. agalactiae tampoco ofrece dificultades para ser identificado en el laboratorio. Se caracteriza por formar colonias grandes, beta-hemolíticas (con halo de hemólisis menor al de los del grupo A), que aglutinan con antígenos del grupo B de Lancefield, tienen positiva la prueba del CAMP-test, hidrolizan el hipurato y son arginina positivas. El factor CAMP es una proteína extracelular que actúa sinérgicamente con la betalisisina de los *Staphylococcus aureus* en la lisis de los hematíes. Existen varios medios de cultivo selectivos para la detección de *S. agalactiae*, recomendados para el cribado de colonización por estreptococos del grupo B en mujeres embarazadas. El medio Granada⁸ es de interpretación sencilla y tiene una sensibilidad y especificidad elevadas. Se basa en la detección del pigmento carotenoides que expresa la mayoría de los estreptococos de este grupo. El crecimiento de colonias de color naranja, tras incubación en anaerobiosis (con un cubreobjetos sobre la placa es suficiente), nos indica la presencia de *S. agalactiae*. Hay que tener en cuenta que, aproximadamente, un 5% de los aislamientos suelen ser cepas no hemolíticas y no pigmentadas, por lo que no serían detectadas con este medio.

El resto de los estreptococos del grupo piogénico, con la excepción de *S. disgalactiae* sp. *disgalactiae*, *S. equi* sp. *equi*, *S. phocae*, *S. uberis*, *S. parauberis* y *S. didelphys*, se ha descrito en alguna ocasión como causante de infección en el ser humano, aunque lo normal es que produzca infección a muy diversos animales. El más frecuentemente descrito en humanos es *S. disgalactiae* subespecie *equisimilis* (que puede ser de los grupos C o G de Lancefield), y más raramente se han descrito infecciones en humanos por *S. canis* y *S. urinalis*. Para su correcta identificación, además de estudiar las características fenotípicas y de utilizar algún método comercial con pruebas bioquímicas (como los ya citados API 20 Strept o rapid ID 32 STREP, o VITEK 2 GP card), se puede secuenciar el gen *16SrRNA* y comparar la secuencia en una base de datos (p. ej., en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

S. dysgalactiae sp. *equisimilis* son cepas de origen humano que generalmente expresan los antígenos de pared de Lancefield C y G. Son positivas en las pruebas de hidrólisis de la esculina y arginina y producen ácido a partir de trehalosa y ribosa. *S. dysgalactiae* sp. *disgalactiae* es la única especie del grupo piogénico que puede no ser beta-hemolítica, y puede pertenecer a los grupos C o L de Lancefield. No se han documentado infecciones en huma-

nos causadas por esta subespecie. Para su completa identificación, hace falta un análisis genético⁹.

S. equi sp. *equi*, son estreptococos del grupo C de Lancefield. No fermentan el sorbitol, afectan sobre todo a caballos y no se ha documentado ninguna infección humana. Algunas infecciones humanas causadas por *S. equi* sp. *zooepidemicus* se han asociado al consumo de productos lácteos contaminados, pero principalmente afecta al ganado bovino. Pertenecen al grupo C de Lancefield y fermentan el sorbitol.

S. canis fue descrito en 1986¹⁰, pertenece al grupo G de Lancefield y se aísla más frecuentemente en perros, de ahí su nombre. Hay que diferenciarlo de *S. disgalactiae* sp. *equisimilis* del grupo G de Lancefield mediante pruebas fenotípicas.

S. iniae, conocido patógeno del pescado, raramente afecta al ser humano y, en caso de hacerlo, es generalmente después de un contacto con peces. Recientemente, se ha descubierto que la morfología de las colonias de *S. iniae* aislados en Asia es diferente de la de los aislados en América¹¹. No posee ningún antígeno de grupo de Lancefield. Es el único estreptococo beta hemolítico PYR positivo, además de *S. pyogenes*. Es difícil de identificar mediante sistemas comerciales y para ello hay que secuenciar el gen *16SrRNA*.

En resumen, en el grupo piogénico, basándonos en el tamaño grande de la colonia, en la reacción hemolítica en placas de sangre y en la detección de antígeno de grupo de Lancefield, es fácil identificar los estreptococos beta hemolíticos más comunes: *S. pyogenes* (grupo A) y *S. agalactiae* (grupo B). Los estreptococos del grupo C o G de origen humano son *S. dysgalactiae* sp. *equisimilis*. Para confirmar la identificación de otras especies es muy recomendable el empleo de otras pruebas bioquímicas o técnicas genotípicas⁴.

Grupo mitis

Además del patógeno *S. pneumoniae* (neumococo), otras 10 especies de estreptococos conforman el grupo mitis (tabla 1).

S. pneumoniae: las colonias de neumococo son características, producen alfa hemólisis y, si se prolonga algo la incubación de las placas, el centro de las colonias aparece ligeramente deprimido como resultado de la autólisis. Existen más de 80 serotipos de neumococo, y entre ellos el serotipo 3 es el único fácilmente reconocible fenotípicamente porque forma colonias más grandes y mucoides que el resto de los neumococos.

Los neumococos se identifican presuntivamente por su sensibilidad a la optoquina (clorhidrato de etilhidrocupreína). Presentan un halo de al menos 14 mm, con un disco de 5 µg de optoquina y 6 mm de diámetro (o de al menos 16 mm de inhibición si el diámetro del disco es de 10 mm). El resto de los estreptococos alfa hemolíticos, o no son inhibidos por la optoquina o tienen halos menores a 14 mm. La prueba de la solubilidad en bilis también se emplea para la identificación de *S. pneumoniae* cuando con la optoquina se tiene un halo de inhibición dudoso o menor al referido y se sigue sospechando que se trate de *S. pneumoniae*. Los neumococos son solubles en bilis. Para realizar esta prueba se hace una suspensión del presunto neu-

mococo en desoxicolato sódico al 2-5% y, a la vez, otro tubo control con solución salina en lugar de desoxicolato sódico. Si, tras incubación a 35 °C durante 2 h, hay un aclaramiento en la turbidez del tubo con desoxicolato sódico y no en el tubo control, la prueba se considera positiva. Otra manera de identificar *S. pneumoniae* es con la prueba de Quellung, empleando el antisuero Omni-serum (Staten Serum Institute, Copenhage). Se mezcla una gota de suspensión del presunto neumococo (densidad 0,5 en la escala de MacFarland) con una gota del antisuero y otra de azul de metileno al 1%, se tapa con un cubreobjetos y a los 5 min se observa en el microscopio (× 1.000) cómo se produce la hinchazón de la cápsula del neumococo. Existen también antisueros específicos para conocer el serogrupo o el serotipo de los neumococos aislados, de especial interés a causa de las vacunas antineumocócicas capsulares o conjugadas.

Existen pruebas comerciales para la detección rápida de antígeno de neumococo en muestras clínicas (orina) mediante inmunocromatografía (Binax NOW *Streptococcus pneumoniae*, Leti, Barcelona), bastante sensibles en neumonías e infecciones que cursan con bacteriemia^{12,13}, pero que no deben aplicarse en niños por su baja especificidad. Recientemente, se han puesto a punto técnicas de biología molecular para identificar y serotipificar *S. pneumoniae*^{14,15}. La serotipificación de neumococos se puede realizar empleando diferentes técnicas, además de la citada de Quellung, con antisueros específicos, técnicas rápidas de aglutinación en látex¹⁷ y sondas de ADN específicas (Accu-probe; GenProbe). Más recientemente, se están poniendo a punto técnicas que emplean *arrays*¹⁷.

Las otras 10 especies que pertenecen al grupo mitis comparten muchos rasgos fenotípicos y son difíciles de diferenciar entre sí. Pertenecen al denominado, en muchas publicaciones, "grupo viridans". Las especies que se han descrito en humanos, casi siempre a partir de la cavidad oral (aunque también en endocarditis y en bacteriemias), son: *S. mitis* y *S. oralis* y, más raramente, *S. cristatus*, *S. peroris* y *S. infantis*. Para identificarlas, hay que realizar una batería de pruebas bioquímicas¹⁸ en galerías comerciales y, a pesar de todo, no siempre es posible identificar con seguridad la especie, con lo que no queda más opción que aplicar técnicas moleculares^{19,20}.

Grupo anginosus

Grupo tradicionalmente conflictivo desde el punto de vista taxonómico, ya que las especies incluidas han recibido distintas denominaciones. Así, *S. milleri*, *S. MG-intermedius* y *S. anginosus-constellatus* son algunos de los términos empleados para referirse a la misma especie²¹.

Este grupo se caracteriza por asociarse con frecuencia a infecciones supuradas y abscesos. Presentan colonias de tamaño pequeño, que pueden ser alfa, beta o no hemolíticas y pertenecer a los grupos A, C, G o F de Lancefield, o a ninguno, y tienen un característico olor a caramelo. Se encuentran con frecuencia en las mucosas humanas, tanto oral como genital y gastrointestinal.

El término "grupo anginosus" fue sugerido por Kawamura et al²² en 1995 y está formado por 3 especies: *S. anginosus*, *S. constellatus* y *S. intermedius*. *S. anginosus* se aísla, generalmente, de muestras relacionadas con el trac-

to gastrointestinal o genitourinario; *S. constellatus*, del tracto respiratorio y *S. intermedius* se relaciona, generalmente, con abscesos hepáticos o cerebrales. Las 3 especies (además de producir el característico olor) son Voges-Proskauer positivas (producen acetoína), hidrolizan la arginina y no acidifican manitol ni sorbitol. Para diferenciar las 3 especies hace falta realizar varias pruebas, como las que se incluyen en las galerías comerciales más utilizadas, ya que son muy similares entre sí. Rufo et al¹⁸ y Whiley et al²³ han propuesto un esquema de identificación mediante pruebas fenotípicas.

Grupo salivarius

Las 3 especies que componen el grupo y que se han aislado en humanos son: *S. salivarius*, *S. vestibularis* y *S. thermophilus*. Producen colonias generalmente no hemolíticas, son bacterias que colonizan la cavidad oral (*S. salivarius* y *S. vestibularis*) y, ocasionalmente, pueden producir infección en el ser humano, principalmente sepsis en pacientes neutropénicos (sobre todo *S. salivarius*) y a veces endocarditis²³⁻²⁵. *S. thermophilus* se encuentra en los productos lácteos. La identificación de cada especie se basa en pruebas bioquímicas: son Voges-Proskauer positivas y no fermentan la arginina, el manitol ni el sorbitol¹⁸ y, eventualmente, en técnicas moleculares^{20,26}.

Grupo bovis

Los estreptococos del grupo bovis se relacionan con aislamientos en sangre de pacientes con endocarditis y que tienen una enfermedad de base que afecta al colon (neoplasias, diverticulitis) o se les ha practicado una colonoscopia. Pertenecen al grupo D de Lancefield y crecen en presencia de bilis-esculina. La terminología habitualmente empleada para los aislamientos realizados en humanos (*S. bovis*) debería ser en realidad *S. equinus*². Schlegel et al²⁷ han efectuado un análisis fisiológico, genético y filogenético de cepas de estreptococos pertenecientes a este grupo.

Existe aún una gran confusión taxonómica en este grupo. Clásicamente se ha dividido en 2 biotipos. El biotipo I incluye a 4 especies: *S. gallolyticus*, *S. macedonicus*, *S. waius* y *S. caprinus*, para el que Schlegel ha propuesto una sola especie, *S. gallolyticus*, con 2 subespecies, *gallolyticus* y *macedonicus*. *S. gallolyticus* sp. *gallolyticus* se aísla, sobre todo, en mastitis bovina y se ha descrito en casos de endocarditis humana asociados a neoplasias de colon. Los *S. bovis* biotipo II son más heterogéneos y la nueva nomenclatura nos dice que *S. bovis* biotipo II.1 son los llamados *S. infantarius* y *S. lutetiensis*, y que los *S. bovis* biotipo II.2 son los ahora llamados *S. pasteurianus*, que son los que se aíslan más frecuentemente en infecciones humanas. En este grupo hay, además, otra especie diferenciada del resto: *S. alactolyticus*, que se aísla en cerdos y pollos.

Grupo mutans

En este grupo se incluye 8 especies de estreptococos que colonizan la superficie de los dientes en humanos y algunas especies que colonizan a animales. Son Voges-Proskauer

positivas, fermentan el manitol y el sorbitol y son negativas frente a arginina. *S. mutans* y *S. sobrinus* son las especies que se han encontrado en humanos. Causan la caries dental y, en ocasiones, se han asociado a endocarditis. Whiley y Beighton²⁸ han efectuado una revisión exhaustiva de los estreptococos orales. Estos mismos autores proponen un esquema basado en pruebas enzimáticas y de fermentación para diferenciarlos²⁹. Las técnicas moleculares, en algunos casos, nos ayudarán a llegar a la identificación de la especie^{20,30}.

Grupo viridans

El término estreptococos del grupo viridans, aunque incorrecto desde el punto de vista científico, es muy empleado en microbiología. En este grupo (no se trata de una especie), al que algunos también denominan “estreptococos orales”, se incluye una gran cantidad de estreptococos, la mayoría de los cuales tiene características similares: a) encontrarse en las mucosas de los mamíferos, incluidos los humanos; b) ser habitualmente no patógenos o, al menos, de escasa virulencia, excepto algunos del grupo anginosus/milleri y los *S. mutans*, relacionados con las caries dentales; c) formar colonias casi siempre de pequeño tamaño (< 0,5 mm), y d) la mayoría son alfa-hemolíticos (de donde viene su nombre viridans, verde), aunque también los hay no hemolíticos e incluso algunos beta-hemolíticos (como algunos del grupo anginosus/milleri).

La utilización de esta denominación evita, en muchos casos, especialmente en los aislamientos sin valor clínico, utilizar recursos para llegar a identificar la especie, hecho que no parece justificarse. Dentro de la denominación de grupo viridans se incluye la mayoría de los estreptococos citados en este documento: los estreptococos que pertenecen a los grupos mitis (a excepción de *S. pneumoniae*), anginosus, salivarius y mutans. Por tanto, los excluidos del grupo viridans son: el neumococo y los estreptococos del grupo piogénico y del grupo bovis, aunque hay algunos autores que también incluyen a estos últimos entre los del grupo viridans.

Las características bioquímicas comunes a la mayoría de las especies pertenecientes al grupo viridans (con excepciones) son: leucinaminopeptidasa (LAP) positiva, PYR negativa, no crecen en caldo con un 6,5% de NaCl y, a excepción de las especies del grupo salivarius, que pueden ser positivas débiles, son bilis-esculina negativas. En el caso de que hubiera que identificar la especie, habría que emplear galerías multipruebas como las citadas anteriormente y, eventualmente, estudios moleculares adicionales²⁶.

Otros estreptococos

Hay 9 especies de estreptococos que se aíslan principalmente de animales, y algunos excepcionalmente de humanos, y que tras su análisis se ha visto que no están relacionadas con ninguno de los grupos de estreptococos conocidos (tabla 1). *S. suis* es un patógeno de los cerdos, reacciona con el antígeno del grupo D de Lancefield, es capsulado y se han descrito más de 30 serotipos. Cuando causa infección en humanos lo hace, generalmente, en forma de brotes y asociado a trabajadores de granjas de cerdos³¹. *S. acidominimus* se asocia al ganado vacuno, *S. hyovaginalis* y *S. tho-*

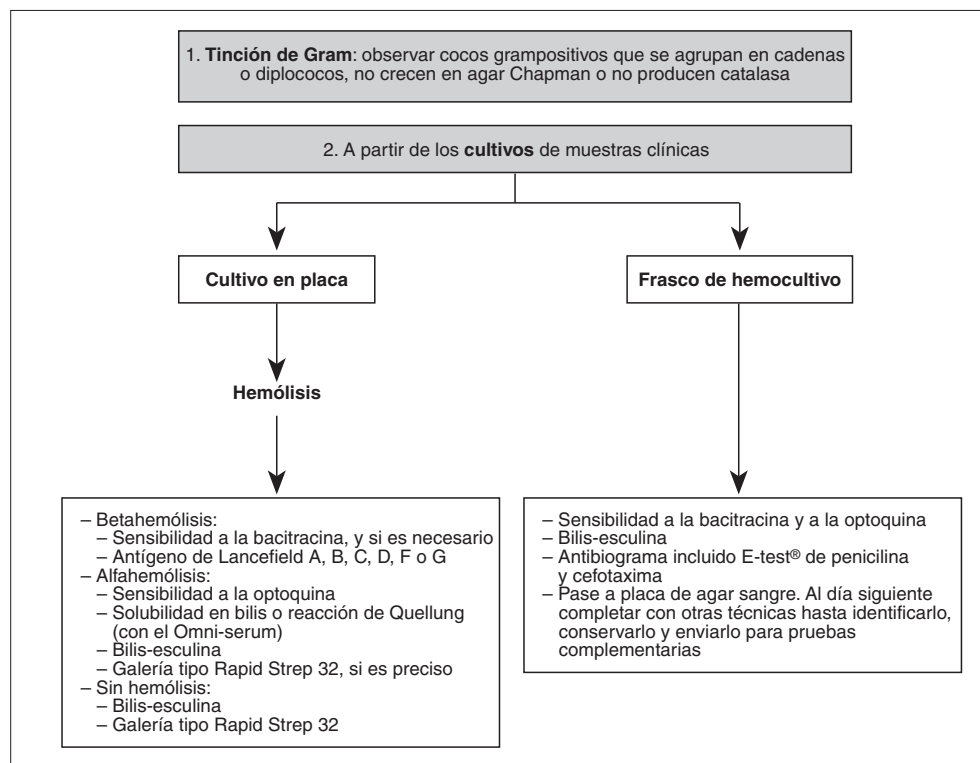


Figura 1. Algoritmo de trabajo recomendado para los estreptococos en un laboratorio de microbiología clínica.

raltensis se aíslan de cerdos machos, *S. pluranimalium* se encuentra en el tracto genital y respiratorio de varios animales (cabras, gatos, canarios, etc.), *S. ovis* se ha aislado a partir de ovejas. *S. intestinalis* y *S. entericus* se aíslan del tracto intestinal de diversos animales³². *S. gallinaceus* es una especie reciente, que se ha descrito asociada a bacteriemia en humanos relacionados con granjas de pollos³³.

Conclusión

Empleando los antígenos de Lancefield y unas pocas pruebas fenotípicas, las especies beta-hemolíticas pueden identificarse en el laboratorio sin grandes problemas (fig. 1). La identificación de las otras especies de estreptococos se hará mediante pruebas bioquímicas empleando equipos comerciales (como Rapid ID-32 Strep system o VITEK2, BioMérieux Marcy l'Etoile, France). En aquellos casos en los que mediante técnicas fenotípicas no se llegue a una identificación de especie, la aplicación de técnicas moleculares (p. ej., secuenciación del gen *16S rRNA*, o detección de los genes *housekeeping* propios de cada tipo de cepa) nos permitirá, en muchas ocasiones, llegar a una identificación definitiva de especie, pero en otras, ni aun aplicando técnicas moleculares llegaremos al discernimiento de la especie de estreptococo que tenemos entre manos²⁰.

Bibliografía

- Hardie JM. Genus *Streptococcus* Rosenbach 1984, 22AL. En: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG, editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 2. Baltimore: Williams & Wilkins Co.; 1986. p. 1043-1071.
- Kilian M. *Streptococcus* and *Lactobacillus*. En: Borriello SP, Murray PR, Funke G, editors. *Topley & Wilson's Bacteriology*. Vol 2. 10th ed. London: ASM Press; 2005; p. 833-81.
- Lancefield RC. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J Exper Med*. 1933;57:571-95.
- Facklam R. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:613-30.
- Perez-Trallero E, Garcia C, Orden B, Marimon JM, Montes M. Dissemination of emm28 erythromycin-, clindamycin- and bacitracin-resistant *Streptococcus pyogenes* in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004;23:123-6.
- Malhotra-Kumar S, Wang S, Lammens C, Chapelle S, Goossens H. Bacitracin-resistant clone of *Streptococcus pyogenes* isolated from pharyngitis patients in Belgium. *J Clin Microbiol*. 2003;41:5282-4.
- Accedido 15 Jun 2007 Disponible en: http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/protocol_emm-type.htm
- De la Rosa M, Villareal R, Vega D, Miranda C, Martínez Brocal A. Granada medium for detection and identification of group B streptococci. *J Clin Microbiol*. 1983;18:779-85.
- Garvie EI, Farrow JAE, Bramley AJ. *Streptococcus dysgalactiae* (Diernhofer) nom. Rev Int J Syst Bacteriol. 1983;33:404-5.
- Devriese LA, Hommez J, Kilpper-Balz R, Schleifer KH. *Streptococcus canis* sp. nov.: a species of group G streptococci from animals. *Int J Syst Bacteriol*. 1986;36:422-5.
- Lau SK, Woo PC, Luk WK, Fung AM, Hui WT, Fong AH, et al. Clinical isolates of *Streptococcus iniae* from Asia are more mucoid and beta-hemolytic than those from North America. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2006;54:177-81.
- Diederer BM, Peeters MF. Rapid diagnosis of pneumococcal pneumonia in adults using the Binax NOW *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test. *Int J Infect Dis*. 2007;11:284-5.
- Lasocki S, Scavinc A, Le Turdu F, Restoux A, Mentec H, Bleichner G, et al. Evaluation of the Binax NOW *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen assay in intensive care patients hospitalized for pneumonia. *Intensive Care Med*. 2006;32:1766-72.
- O'Halloran DM, Cafferkey MT. Multiplex PCR for identification of seven *Streptococcus pneumoniae* serotypes targeted by a 7-valent conjugate vaccine. *J Clin Microbiol*. 2005;43:3487-90.
- Brito DA, Ramirez M, De Lencastre H. Serotyping *Streptococcus pneumoniae* by multiplex PCR. *J Clin Microbiol*. 2003;41:2378-84.
- Slotved HC, Kalsoft M, Skovsted IC, Kernn MB, Espersen F. Simple, rapid latex agglutination test for serotyping of pneumococci (Pneumotest-Latex). *J Clin Microbiol*. 2004;42:2518-22.
- Wang Q, Wang M, Kong F, Gilbert GL, Cao B, Wang L, et al. Development of a DNA microarray to identify the *Streptococcus pneumoniae* serotypes contained in the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine and closely related serotypes. *J Microbiol Methods*. 2007;68:128-36.

18. Spellerberg B, Brandt C. *Streptococcus*. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of clinical microbiology*. 9th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 2007. p. 412-29.
19. Barsotti O, Decoret D, Renaud FN. Identification of *Streptococcus mitis* group species by RFLP of the PCR-amplified 16S-23S rDNA intergenic spacer. *Res Microbiol*. 2002;153:687-91.
20. Haanperä M, Jalava J, Huovinen P, Meurman O, Rantakokko-Jalava K. Identification of alpha-hemolytic streptococci by pyrosequencing the 16S rRNA gene and by use of VITEK 2. *J Clin Microbiol*. 2007;45:762-70.
21. Whiley RA, Beighton D, Winstanley TG, Fraser HY, Hardie JM. *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus*, and *Streptococcus anginosus* (the *Streptococcus milleri* group): association with different body sites and clinical infections. *J Clin Microbiol*. 1992;30:243-4.
22. Kawamura Y, Hou XG, Sultana F, Miura H, Ezaki T. Determination of 16S rRNA sequences of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus gordonii* and phylogenetic relationships among members of the genus *Streptococcus*. *Int J Syst Bacteriol*. 1995;45:406-8.
23. Whiley RA, Fraser H, Hardie JM, Beighton D. Phenotypic differentiation of *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus*, and *Streptococcus anginosus* strains within the "*Streptococcus milleri* group". *J Clin Microbiol*. 1990;28:1497-501.
24. Han XY, Kamana M, Rolston KV. Viridans streptococci isolated by culture from blood of cancer patients: clinical and microbiologic analysis of 50 cases. *J Clin Microbiol*. 2006;44:160-5.
25. Doyuk E, Ormerod OJ, Bowler IC. Native valve endocarditis due to *Streptococcus vestibularis* and *Streptococcus oralis*. *J Infect*. 2002;45:39-41.
26. Alam S, Brailsford SR, Whiley RA, Beighton D. PCR-Based methods for genotyping viridans group streptococci. *J Clin Microbiol*. 1999;37:2772-6.
27. Schlegel L, Grimont F, Ageron E, Grimont PA, Bouvet A. Reappraisal of the taxonomy of the *Streptococcus bovis*/*Streptococcus equinus* complex and related species: description of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* subsp. nov., *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus* subsp. nov. and *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus* subsp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2003;53:631-45.
28. Whiley RA, Beighton D. Current classification of the oral streptococci. *Oral Microbiol Immunol*. 1998;13:195-216.
29. Beighton D, Russell RR, Whiley RA. A simple biochemical scheme for the differentiation of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Caries Res*. 1991;25:174-8.
30. Sato T, Hu JP, Ohki K, Yamaura M, Washio J, Matsuyama J, et al. Identification of mutans streptococci by restriction fragment length polymorphism analysis of polymerase chain reaction-amplified 16S ribosomal RNA genes. *Oral Microbiol Immunol*. 2003;18:323-6.
31. Lun ZR, Wang QP, Chen XG, Li AX, Zhu XQ. *Streptococcus suis*: an emerging zoonotic pathogen. *Lancet Infect Dis*. 2007;7:201-9.
32. Vela AI, Fernandez E, Lawson PA, Latre MV, Falsen E, Dominguez L, et al. *Streptococcus entericus* sp. nov., isolated from cattle intestine. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2002;52:665-9.
33. Collins MD, Hutson RA, Falsen E, Inganas E, Bisgaard M. *Streptococcus gallinaceus* sp. nov., from chickens. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2002;52:1161-4.