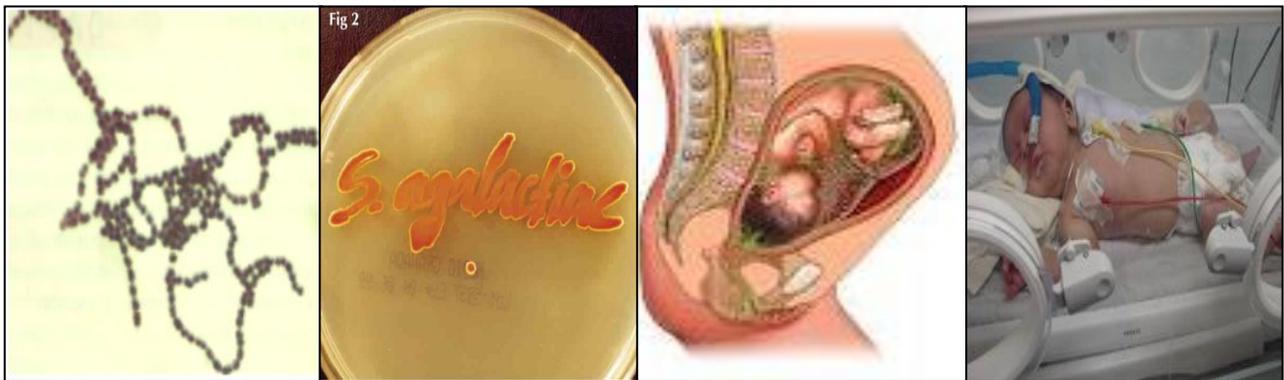




Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"
Departamento de Bacteriología-Micología

Laboratorio de Bacteriología.



***Streptococcus agalactiae*: colonización vaginal/rectal en gestantes y estudio de la susceptibilidad a la terapia antimicrobiana intraparto.**

Tesis de grado para optar por el Título de Máster en Bacteriología-Micología

Autora: Dra. Adilys Alvarez Cruz

Tutores: Lic. Gilda Toraño Peraza, DrC

Dr. Rafael Llanes Caballero, MSc

Asesor: Lic. Beatriz Vega Riverón, MSc

La Habana

2013



Instituto de Medicina Tropical

“Pedro Kourí”

Streptococcus agalactiae: colonización vaginal/rectal en gestantes y estudio de la susceptibilidad a la terapia antimicrobiana intraparto.

Autor: Dra. Adilys Alvarez Cruz

Tutores: Lic. Gilda Toraño Peraza, DrC

Dr. Rafael Llanes Caballero, MSc

Asesor: Lic. Beatriz Vega Riverón, MSc

**Tesis de grado para optar por el Título de Máster en
Bacteriología-Micología**

La Habana

2013

Dedicatoria

A mis quienes debo mi existencia, mis padres.

A mi hijo Alejandro, mi razón de ser.

A mi esposo por su ayuda incondicional.

Agradecimientos:

Quisiera hacer extensivo mis agradecimientos a todas aquellas personas que de una forma u otra ayudaron en la realización de este trabajo, en especial:

Al departamento de Docencia y de Bacteriología-Micología, por contribuir con paciencia y esmero a mi formación.

A mis tutores, Lic. Gilda Toraño Peraza y Dr. Rafael Llanes Caballero, por todos los conocimientos, amor y especial dedicación brindados en el curso de esta investigación.

A mi asesora, Lic. Beatriz Vega Riverón, por su confianza e incondicionalidad, por toda la ayuda brindada.

A la Lic. María Isabel Chao y la Dra. Nereyda Cantelar de Francisco, guías constantes en el proceso de formación docente.

A compañeros que en momentos difíciles, fueron capaces de brindarme su mano.

Al colectivo de trabajo del laboratorio de microbiología de Melena del Sur y de referencia Nacional de IRA.

A todos los médicos y enfermeras de la Subdirección de Asistencia Médica del municipio Melena del Sur, por su preocupación y cooperación en la realización del estudio.

Al personal de la biblioteca y del laboratorio de computación, por su ayuda en la búsqueda de información.

A Lázaro por su ayuda en la encuadernación de la tesis.

A las gestantes que dieron su consentimiento para participar en el estudio.

A mi familia por estar siempre a mi lado y ser partícipe de mis logros.

*“Para cambiar el mundo,
antes debemos cambiar la manera de nacer”*

Michel Odent

RESUMEN

En Cuba se desconoce el peso de la colonización vaginal/rectal por *Streptococcus agalactiae* o estreptococo beta hemolítico grupo B (SGB) como factor de riesgo para el desarrollo de sepsis neonatal precoz. Con este objetivo se llevó a cabo un estudio entre la población de gestantes de Melena del Sur, Provincia Mayabeque, que incluyó a 120 gestantes, todas entre 35 y 37 semanas, en el período de febrero-agosto 2011. Se obtuvieron muestras vaginales y rectales de cada una de ellas, y se utilizaron para el aislamiento primario de SGB, el caldo Todd Hewitt y el medio Granada. La susceptibilidad antimicrobiana se estudió por el método de Bauer y Kirby. En el 27,5% de las gestantes se demostró colonización por SGB. Los mayores porcentajes de susceptibilidad fueron para ciprofloxacina, vancomicina (79,5%), cloranfenicol (70,5%), ceftriaxona (68,2%) y tetraciclina (52,3%). La constatación de cuatro casos de sepsis en neonatos apunta hacia el tratamiento profiláctico como estrategia para interceptar la transmisión vertical siempre que se demuestre colonización por SGB. Se necesitan estudios similares para conocer a nivel nacional el peso de este factor en la incidencia de la sepsis neonatal de inicio temprano.

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ACOG: Colegio Estadounidense de Obstetras y Ginecólogos

APA: Academia Estadounidense de Pediatría

APP: Antecedentes patológicos personales

ARNr: Ácido ribonucleico ribosomal

Caldo TH: Caldo Todd Hewitt

CAMP: Prueba presuntiva para la identificación de SGB

CDC: Centro para el Control de las Enfermedades

FDA: Food and Drug Administration

HTA: Hipertensión arterial

IDI-Strep B: Infectio Diagnostic Inc.

IgG: Inmunoglobulina G

IPK: Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”

ITU: Infección del tracto urinario

MOPS: Ácido 3-morfolinopropanosulfónico

i.v: Intravenosa

PAMI: Programa materno infantil

PIR: Prueba presuntiva para la determinación de la enzima pirridonilpeptidasa

PP: Parto pretérmino

PSC: Polisacáridos

R: Recto

RCP: Reacción en cadena de la polimerasa

RPM: Ruptura prematura de membranas

SGB: *Streptococcus* β -hemolítico del Grupo B

V: Vagina

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana

INDICE

	Páginas
I. INTRODUCCIÓN	2
1.1 Objetivos	5
II. MARCO TEÓRICO	7
2.1 Género <i>Streptococcus</i>	7
2.2 <i>S. agalactiae</i>	9
2.2.1 Inmunopatogenia de la infección por <i>S. agalactiae</i>	9
2.3 Manifestaciones clínicas de la infección por <i>S. agalactiae</i>	11
2.4 Epidemiología de la infección neonatal por <i>S. agalactiae</i>	12
2.5 Diagnóstico microbiológico de SGB	13
2.5.1 Toma, transporte y conservación de muestras clínicas para demostrar colonización vaginal /rectal	13
2.5.2 Aislamiento e identificación	13
2.5.3 Métodos de diagnóstico rápido	16
2.6 Prevención, control y tratamiento	17
2.6.1 Prevención inmunológica	19
2.7 Susceptibilidad antimicrobiana de SGB	20
III. DISEÑO METODOLÓGICO	23
3.1 Tipo de estudio y diseño general	23
3.2 Universo y muestra	23
3.2.1 Criterios de inclusión	23
3.2.2 Criterios de exclusión	24
3.3 Consideraciones éticas	24
3.4 Recolección de los exudados vaginales y rectales	24
3.5 Procesamiento de los exudados vaginales y rectales	25

	Páginas
3.5.1 Medios de cultivo para el aislamiento de SGB	25
3.5.2 Procesamiento de las muestras	25
3.6 Estudio de la susceptibilidad antimicrobiana	26
3.7 Seguimiento de los casos en que se demostró colonización por SGB	26
3.8 Análisis y procesamiento de la información	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
4.1 Detección de <i>S. agalactiae</i> a partir de exudados vaginales y rectales	30
4.1.1 Prevalencia de la colonización vaginal/rectal por SGB	31
4.2 Sensibilidad para la detección de SGB de los medios de cultivo empleados	32
4.3 Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos de SGB recuperados	36
4.4 Factores de riesgo obstétricos para la infección neonatal identificados en el momento del parto	40
4.4.1 Conducta seguida para la prevención de sepsis neonatal y resultados	41
V. CONCLUSIONES	45
VI. RECOMENDACIONES	47
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
ANEXOS	

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia, a nivel mundial, las infecciones neonatales han constituido una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en las unidades de recién nacidos, y del incremento de las estancias hospitalarias por las implicaciones que conllevan. Cualquier medida encaminada a mejorar las estrategias de detección de los agentes responsables de estas repercute en la disminución del ingreso en dichas unidades. Según el momento de aparición de los síntomas se clasifican de inicio temprano o tardío (Saltigeral *et al.*, 2007; Cruz *et al.*, 2008).

Entre los agentes etiológicos de sepsis de inicio temprano, *Streptococcus agalactiae* o *Streptococcus* β -hemolítico del Grupo B (SGB) se considera como la causa más frecuente de infección neonatal severa y de muerte materna (Alegría *et al.*, 2007; Poyart *et al.*, 2008). Esta bacteria coloniza el tracto gastrointestinal, desde donde puede trasladarse a la vagina para también colonizarla, de forma transitoria o intermitente, lo que cobra especial importancia durante el embarazo pues puede conducir a infecciones graves en el recién nacido por transmisión vertical antes o durante el parto (Hansen *et al.*, 2004; Namavar *et al.*, 2008; Rojas *et al.*, 2010). La colonización se presenta de manera asintomática entre el 5 - 35% de las embarazadas dependiendo del país, grupo étnico, edad y métodos utilizados para su detección. Alrededor del 2% de los niños nacidos de madres colonizadas desarrollan la enfermedad, el 89% de ellas se presentan como sepsis y el 10% como meningitis (Schrag *et al.*, 2002; García *et al.*, 2003; Mckenna *et al.*, 2003).

Son varios los factores que aumentan la probabilidad de que un recién nacido desarrolle infección neonatal de comienzo precoz, pero la colonización vaginal se considera la más importante porque incrementa el riesgo en más de 29 veces. Entre otros factores se citan: el nacimiento pretérmino, la ruptura prematura de membranas, la fiebre durante el parto, la bacteriuria por SGB durante el embarazo y antecedentes de hijos con infección por este agente. También se reconocen como factores de riesgo,

aunque en menor grado: la edad (< 20 años), el color de la piel (negra) y el origen étnico de la madre (hispano), así como los bajos niveles de anticuerpos contra el antígeno capsular de SGB y la colonización de otros sitios anatómicos. En cambio, no se conocen con certeza los factores de riesgo para el desarrollo de sepsis neonatal de inicio tardío y en muchos de los casos se consideran como infección nosocomial o adquirida en la comunidad (Puopolo *et al.*, 2005; Alsina *et al.*, 2006; Kovavisarach *et al.*, 2007).

La intercepción de la transmisión vertical por SGB se convierte así en una intervención de gran importancia sanitaria. Para conseguirlo se intentó en primer lugar, erradicar la colonización durante la gestación pero esto resultó fallido porque el reservorio de SGB es el recto, donde la abundancia de bacterias gramnegativa productoras de betalactamasas condiciona la inactivación del antibiótico que se administra con este propósito (CDC, 1996). Cuando se suspende el tratamiento, la vagina nuevamente puede ser colonizada por SGB. Otro elemento que contribuye al poco éxito de esta estrategia es que la colonización vaginal es intermitente en aproximadamente el 30% de las gestantes (Trijbels *et al.*, 2007; CDC, 2007).

Más recientemente se ha demostrado que la administración de antibióticos intraparto, si se inicia como mínimo dos horas antes del nacimiento, reduce significativamente la morbilidad y mortalidad neonatal, por lo que esta constituye la estrategia ideal (Rausch *et al.*, 2009). Sin embargo, el tratamiento no puede aplicarse indiscriminadamente a todas las embarazadas, debido a las posibles reacciones adversas y al costo que ello supondría; solamente debe administrarse a aquellas gestantes en las que se demuestre colonización vaginal/rectal por SGB entre las 35 y 37 semanas del embarazo (CDC, 2002; Sandoval *et al.*, 2008).

En Cuba son escasos los estudios dirigidos a determinar la prevalencia de colonización vaginal por SGB y a la caracterización de los aislamientos recuperados en estos casos. Por ejemplo, en un estudio realizado en 1988, que incluyó 978 gestantes de Ciudad de La Habana, se encontró un 4,04% de colonización por esta bacteria (Faisal, 1988). Más

recientemente, en otra investigación realizada en el Instituto Superior de Medicina Militar “Dr. Luis Díaz Soto” entre el 2003 y 2004, se notificó un 2,3% de aislamientos de SGB pero en muestras extragenitales de pacientes adultas no gestantes (Nodarse *et al.*, 2007).

No obstante, en correspondencia con las recomendaciones internacionales se indica la profilaxis empírica con antibióticos a las embarazadas con factores de riesgo para el desarrollo de sepsis neonatal y hasta la fecha, no se estipula la búsqueda de SGB en muestras vaginales y rectales de embarazadas, por consiguiente, se desconoce la resistencia al tratamiento recomendado para la prevención (comunicación personal de Dr. Manolo Seijas López, responsable del Programa Materno Infantil (PAMI) en el Municipio Melena del Sur, pues no fue posible acceder a esta información a través de la consulta del Programa Nacional).

Con todos estos antecedentes y con la convicción de que se ignora en el país el peso de la colonización vaginal/rectal por SGB como factor de riesgo para el desarrollo de sepsis neonatal, se planteó la presente investigación.

1.1 OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la prevalencia de colonización vaginal/rectal por SGB entre la población de gestantes del Municipio Melena del Sur, provincia Mayabeque, en el período de febrero-agosto 2011 y estudiar la susceptibilidad al tratamiento recomendado para la prevención de la infección neonatal por este agente.

Objetivos específicos

- ❖ Detectar SGB en exudados vaginales y rectales de embarazadas entre 35 y 37 semanas de gestación.
- ❖ Comparar la sensibilidad de detección de SGB empleando dos medios de cultivo diferentes (caldo Todd Hewitt y medio Granada).
- ❖ Determinar la susceptibilidad de los aislamientos de SGB recuperados a los antimicrobianos recomendados para la terapia intraparto.
- ❖ Describir la aparición, en el momento del parto, de factores de riesgo obstétricos para el desarrollo de una sepsis neonatal de inicio temprano por SGB, así como la conducta seguida en esos casos y sus resultados.

MARCO TEÓRICO

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Género *Streptococcus*

El estudio de los estreptococos en el laboratorio se posibilitó por la introducción de medios de cultivo sólidos hacia fines del siglo XIX. De esta forma, Schott-Müller, en 1903 demostró las reacciones hemolíticas producidas por los estreptococos en agar sangre y a Brown, en 1919, trabajando en el Instituto Rockefeller, fue el primero en describir los diferentes tipos de reacciones hemolíticas alfa, beta y gamma (Koneman *et al.*, 1998).

Orland Jensen, también en 1919 describió por primera vez la producción de colonias pigmentadas por estreptococos y refirió que *Streptococcus mastitis* (ahora conocido como *S. agalactiae*) desarrollaba un color anaranjado en caldo de peptona con caseína y almidón soluble. Durand y Giraud, en 1923 publicaron un estudio acerca de estreptococos cromógenos, donde demostraron la importancia del almidón como componente del medio y el mantenimiento de condiciones anaerobias, como los factores necesarios para la producción del pigmento (Koneman *et al.*, 1998).

A principios de la década de 1930, Rebecca Lancefield identificó cinco grupos antigénicos de estreptococos a los que denominó A, B, C, D y E, en base a diferencias serológicas en el polisacárido C de la pared celular, desde entonces los continuos estudios e investigaciones han ampliado a 18 el número de grupos serológicos reconocidos (Rojas *et al.*, 2006).

Las especies del género *Streptococcus* son bacterias anaerobias facultativas esféricas u ovals que miden menos de 2 µm de diámetro. Mediante tinción de Gram se observan como cocos Gram-positivos agrupados en parejas o cadenas. Entre otras características importantes destacan la no movilidad, la carencia de flagelos y esporas, y la reacción negativa frente a la catalasa (Murray *et al.*, 2006).

Las especies que integran el género se consideran relativamente fastidiosas, por sus exigencias nutricionales variables, pues requieren de medios nutritivos enriquecidos con sangre o suero para su crecimiento y en ocasiones atmósferas de CO₂ (5-10%).

Bajo estas condiciones, luego de 18-24 horas de incubación a 35-37°C, las colonias aisladas miden entre 0.3 y 2 mm de diámetro, son opacas, blanquecinas, circulares, de bordes definidos y presentan hemólisis variable (Murray *et al.*,2006).

Algunas especies del género son patógenas y otras comensales avirulentos que forman parte de la flora normal del tracto respiratorio, gastrointestinal y genital, que colonizan la piel y las membranas mucosas (Donati *et al.*, 2010). Las especies de *Streptococcus* conocidas hasta el momento se muestran en la tabla # 1; la clasificación en los diferentes grupos se basa en el análisis del ARNr 16S (Rojas *et al.*, 2006).

Tabla #1. Especies del género *Streptococcus* en función del análisis del ARNr 16S.

Grupo	Especies	Grupo	Especies
I Piogénico	<i>S. pyogenes</i> <i>S. agalactiae</i> <i>S. equi</i> <i>S. dysgalactiae</i> <i>S. canis</i> <i>S. porcinus</i>	V <i>S. salivarius</i>	<i>S. salivarius</i>
II <i>S. bovis</i>	<i>S. bovis</i> <i>S. equinus</i>	VI <i>S. milleri</i>	<i>S. anginosus</i> <i>S. constellatus</i>
III <i>S. mitis</i>	<i>S. mitis</i> <i>S. gordonii</i> <i>S. pneumoniae</i>	VII Otras especies	<i>S. acidominimus</i> <i>S. suis</i>
IV <i>S. mutans</i>	<i>S. mutans</i> <i>S. sobrinus</i>		

En el campo de la microbiología médica se tiende a utilizar más la clasificación que se aplica a los estreptococos de interés médico, teniendo en cuenta la morfología de las colonias y las reacciones hemolíticas, las especificidades serológicas de la sustancia de la pared celular que indica el grupo y las reacciones bioquímicas (Zuazo, 2001).

2.2 *S. agalactiae*

S. agalactiae o SGB tiene una amplia historia epidemiológica. Primeramente recibió atención debido a la producción de mastitis en el ganado bovino, enfermedad que le dio nombre (Bisharat *et al.*, 2004). En 1938 se le reconoció como causa de infección humana, cuando Fry describió tres casos de sepsis puerperal fatal, aunque algunos años antes, en 1935, Lancefield y Hare, identificaron estos microorganismos en cultivos vaginales de puérperas asintomáticas (Fry, 1938). A pesar de que se continuaron informando casos esporádicos durante las próximas tres décadas, estos microorganismos permanecieron desconocidos hasta que a finales de 1960, en los Estados Unidos y Europa, se asoció frecuentemente con infecciones en la madre y el recién nacido (Gibbs *et al.*, 2004).

S. agalactiae es una bacteria encapsulada y el 98% de los aislamientos de esta especie producen β hemólisis en agar sangre. Precisamente el antígeno capsular específico al que obedece su ubicación en el grupo B de Lancefield, permite la clasificación en nueve serotipos: Ia, Ib, Ic, III, IV, VI, VII, VIII y IX (Facklam, 2002; Slotved, 2007). El tipo III es el más frecuentemente asociado a cultivos positivos en la madre (26%) y enfermedad en el neonato (64%) (Benchetrit *et al.*, 1982; Gibbs *et al.*, 2004).

2.2.1 Inmunopatogenia de la infección por *S. agalactiae*

La composición antigénica del género *Streptococcus* es muy variada y compleja. La estructura más externa es la cápsula, constituida por ácido hialurónico; hacia el interior de la célula se haya la pared bacteriana, cuya composición es la típica de las bacterias gram positivas, constituida por peptidoglucano, ácido teicoico, una gran variedad de hidratos de carbono y de antígenos proteínicos de superficie. La pared está cubierta de protrusiones de tipo piloso o fimbrias formadas por los antígenos proteínicos M, T y R, y por ácido lipoteicoico. La proteína M es un importante factor de virulencia y el ácido lipoteicoico facilita la adherencia a las mucosas. También presenta una enzima específica denominada factor de opacidad del suero, que se encuentra asociada a

ciertos serotipos de proteínas M, que produce opacidad en los sueros de distintas especies de mamíferos. Otro constituyente de la pared es el polisacárido C cuya estructura antigénica, como ya se dijo antes, es determinante para la clasificación en grupos serológicos dentro del género (Clasificación de Lancefield) (Jawetz *et al.*, 2006).

Para lograr una adecuada respuesta inmune contra SGB es necesario que se active de la vía clásica del complemento, la opsonización y la fagocitosis por neutrófilos. Dentro de sus principales factores de virulencia está el ácido hialurónico que se encuentra en la cápsula, cuyo papel es impedir la activación del complemento, posibilitando el desarrollo de la infección. Por otra parte, las alteraciones en la función de los fagocitos o en los factores de la inmunidad humoral también aumentan la susceptibilidad a padecer dicha infección (Hensler *et al.*, 2008).

La presencia de anticuerpos contra el polisacárido es importante para lograr una respuesta inmune eficaz y de esta forma controlar las infecciones por este microorganismo; por tal motivo, los pacientes con algún tipo de hipogammaglobulinemia tienen un riesgo más grande de sufrir la infección. Tal es el caso de los neonatos, donde la infección ocurre por la inmadurez del sistema inmune y en adultos cuando hay defectos específicos de la inmunidad. De este modo, se refiere un riesgo 30 veces mayor en individuos con diabetes mellitus, cáncer o infección por VIH, además de los esplenectomizados, en quienes se puede presentar sepsis fulminante por esta bacteria. (Edwards *et al.*, 2004; Epalza *et al.*, 2010).

La principal vía para adquirir SGB consiste en el paso por el canal del parto colonizado, aunque también se puede producir por infección intrauterina y nosocomial postparto. En los neonatos es un patógeno importante que causa neumonía, sepsis y meningitis con una mortalidad alta. En las madres, produce infecciones intrauterinas, endometritis, fiebre postparto, infección urinaria y bacteriemia. Aunque la transmisión madre-hijo ocurre entre el 29% y 70% de los casos, no todos los neonatos desarrollan infecciones (Andreu *et al.*, 2007; Larsen y Sever, 2008).

Entre los factores de riesgo que aumentan la probabilidad de que un recién nacido desarrolle una infección por SGB de inicio temprano, el principal es la colonización materna, que incrementa el riesgo en más de 29 veces. También se reconocen como factores importantes: el nacimiento prematuro (< 37 semanas), la ruptura de membranas (>18 horas), la fiebre durante el parto ($\geq 38^{\circ}\text{C}$), bacteriuria por SGB durante el embarazo y antecedentes de otros hijos con infección por SGB. Se asocian además con el desarrollo de la enfermedad, aunque en menor grado, la edad menor de 20 años, el color de la piel negra, el origen hispano y los bajos niveles de anticuerpos contra el antígeno capsular de SGB. En cambio, no se conocen con certeza los factores de riesgo para desarrollar la enfermedad de inicio tardío; pero en los casos en que se presentan obedecen a infección nosocomial o adquirida en la comunidad (Huiza *et al.*, 2003; Kovavisarach *et al.*, 2007a; Morganm *et al.*, 2010).

2.3 Manifestaciones clínicas de la infección por *S. agalactiae*

La etiología de la infección neonatal de transmisión vertical ha ido cambiando a lo largo del tiempo. Hasta la mitad de la década de 1970, *Listeria monocytogenes* fue la principal bacteria responsable; en 1976 cedió el liderazgo a *E.coli* y a partir de 1980, *Streptococcus agalactiae* se reconoce como el principal agente etiológico de infecciones en neonatos (Rausch *et al.*, 2009).

La infección neonatal, de acuerdo al momento en que aparecen los síntomas, se divide en sepsis de inicio temprano y sepsis tardía. La sepsis de inicio temprano es aquella en la que los síntomas aparecen en las primeras 72 h (dificultad respiratoria, apnea, shock, neumonía, meningitis, sepsis generalizada, artritis séptica, osteomielitis, celulitis, endocarditis y epiglotitis). En cambio, se considera sepsis de inicio tardío cuando las manifestaciones clínicas tienen lugar después de las primeras 72 h, incluso hasta los tres meses de vida (Coronell *et al.*, 2009). La enfermedad de inicio temprano representa el 80% de los casos y entre el 15-30% de estos tendrán secuelas a largo plazo. De todos los recién nacidos de madres colonizadas por SGB, entre el 1 y 2% desarrollará infección invasiva, el 89% de ellas se presentan como sepsis y el 10%

como meningitis, causando una mortalidad de aproximadamente un 5%. Los que sobreviven pueden desarrollar secuelas a largo plazo como pérdida de la audición, la visión y retraso mental (Bisharat *et al.*, 2004; Castrodale *et al.*, 2007; Poyart *et al.*, 2008).

La enfermedad en gestantes puede presentarse como bacteriurias asintomáticas, bacteriemias, leucorreas, fiebre ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) intraparto o posparto, endometritis, muerte intrauterina, aborto espontáneo, ruptura prematura de membranas (antes 37 semanas), parto pretérmino e infecciones en piel y tejidos blandos postcirugía (Krasnianin *et al.*, 2009).

En pacientes adultos con el sistema inmunológico alterado, como en los diabéticos, cirróticos, alcohólicos, dializados, personas que viven con el virus de la inmunodeficiencia humana y personas con anomalías neurológicas (accidente cerebrovascular, demencia, paraplejía o cuadriplejía) o con úlceras por decúbito, SGB es responsable de enfermedades tales como artritis, osteomielitis, bacteriemia, endocarditis, neumonía, meningitis, infecciones urinarias, uretritis (en el hombre), fiebre de origen desconocido e infecciones de piel y partes blandas. Otras formas inusuales son el absceso mamario en mujeres que no se hallan en el período de lactancia, el absceso epiglótico, el aneurisma micótico de la arteria femoral, el absceso hepático, la peritonitis, la queratitis, la endoftalmitis y la infección del cable de marcapasos, pero su incidencia es menor que en los recién nacidos (Edwards *et al.*, 2004).

2.4 Epidemiología de la infección neonatal por *S. agalactiae*

S. agalactiae integra la microbiota comensal del intestino, que constituye su principal reservorio. En forma intermitente coloniza la vagina y la región rectal de la población femenina, con más frecuencia en mujeres embarazadas (Hansen *et al.*, 2004; Phares *et al.*, 2008). La intermitencia de la colonización genital durante el embarazo conduce a que los cultivos realizados en el segundo trimestre tengan poco valor predictivo para asumir la colonización en el momento del parto, por lo que es aconsejable el estudio entre las semanas 35 y 37 de gestación. La colonización durante un embarazo no

implica colonización en embarazos siguientes, por lo tanto, debe efectuarse un cultivo en cada nueva gestación (Turrentine y Ramirez, 2008).

2.5 Diagnóstico microbiológico de SGB

La adecuada selección, recolección y transporte de muestras clínicas tiene como objetivo fundamental la obtención de material representativo del proceso infeccioso y mantener la integridad y viabilidad de los agentes involucrados (Rojas *et al.*, 2006).

2.5.1 Toma, transporte y conservación de muestras clínicas para demostrar colonización vaginal/rectal

Para el aislamiento de SGB se recomienda la obtención de muestras vaginales y rectales a todas las embarazadas entre 35 y 37 semanas de gestación, mediante un hisopado de la parte inferior de la vagina o introito vaginal y del recto, utilizando hisopos diferentes para cada una y sin usar espéculo. Los cultivos de exudados cervicales no se recomiendan (CDC, 2002).

Si las condiciones lo permiten, las muestras se deben sembrar directamente en los medios de cultivo, de lo contrario se deben colocar los hisopos dentro de un medio de transporte. Entre los sistemas de transporte apropiados se recomiendan el medio Amies y el Stuart sin el agregado de carbón, ambos deben mantener la viabilidad de SGB, hasta 4 días, a temperatura ambiente o refrigerada (Teese *et al.*, 2003).

2.5.2 Aislamiento e identificación

Cada una de las muestras obtenidas (vagina y recto) debe sembrarse en los medios selectivos recomendados internacionalmente para el aislamiento primario de SGB (Adler *et al.*, 2008).

Fenton, en 1979, utilizó con este propósito el caldo Todd Hewitt (caldo TH), al que le adicionó como sustancias selectivas 8 µg/ml de sulfato de gentamicina y 15 µg/ml de ácido nalidíxico, y demostró que concentraciones mayores de gentamicina inhibían el crecimiento de algunas cepas de SGB. La suplementación del caldo con estos

antibióticos inhibe el desarrollo de bacilos gram positivos y negativo presentes en la muestra a estudiar (Adler *et al.*, 2008).

Luego de la inoculación del caldo TH a 37°C durante 18-24 horas, se resiembra en una placa de agar sangre de carnero, se incuba en atmósfera de un 5-10% de CO₂ y se examina la presencia de colonias β hemolíticas. La hemólisis puede ser difícil de observar en algunos casos, por lo tanto, colonias típicas de SGB (pequeñas y opalescentes) sin hemólisis deberán ser tenidas en consideración para la identificación. La identificación en forma presuntiva de las colonias compatibles con SGB se realiza mediante: tinción de gram, prueba de la catalasa y prueba de CAMP. La confirmación serológica de los aislamientos se hace utilizando el suero específico para la detección antigénica, mediante técnicas de aglutinación con partículas de látex (CDC, 2002).

El tipo de hemólisis producida en agar sangre de carnero al 5% es muy útil para la identificación preliminar de cepas de SGB, la mayoría son β hemolíticos, produciendo una zona clara incolora alrededor de la colonia, lo cual indica lisis completa de los eritrocitos. Los SGB tienen además la capacidad de hidrolizar el hipurato de sodio por la acción de la hipuricasa, una enzima hidrolítica producida por estos microorganismos, con la consiguiente formación de benzoato de sodio y glicina. La ninhidrina se puede utilizar para detectar glicina (Adler *et al.*, 2008).

La actividad hemolítica de la beta lisina estafilocócica sobre los eritrocitos se ve intensificada por un factor extracelular producido por SGB, llamado factor de CAMP. Por lo tanto, cada vez que estos dos reactantes se superponen en una placa de agar sangre ovina se advierte una intensificación de la reacción beta hemolítica. La prueba se realiza trazando una estría del aislamiento sugerente de estreptococos en forma perpendicular a otra estría de una cepa de *Staphylococcus aureus* conocida como productora de beta lisina. Ambas líneas no deben tocarse. La zona de intensificación de lisis asume la forma de una cabeza de flecha en la intersección de ambas estrías. (Picard y Bergeron, 2004; Adler *et al.*, 2008).

A pesar que el caldo TH ha sido ampliamente utilizado y considerado como estándar para el diagnóstico de SGB en gestantes, los métodos alternativos emergen con la meta de mejorar sensibilidad y especificidad al reducir el tiempo de incubación. Con este propósito se utiliza el medio Granada (Abarzúa *et al.*, 2002; Carvalho *et al.*, 2009).

De la Rosa *et al.*, 1992 diseñaron este medio de cultivo que tiene como base la producción de un pigmento naranja, en condiciones de anaerobiosis (Anexo #1) Este medio contiene: methotrexate (antagonista del folato) como factor activador de la producción de pigmento por *S. agalactiae*; glucosa y piruvato sódico, que impiden la formación de compuestos inhibitorios en el medio, las peptonas, el almidón y el suero de caballo que proveen los nutrientes necesarios para el crecimiento de bacteria; el ácido 3-morfolinopropanosulfónico (MOPS) y el fosfato sódico como amortiguadores; metronidazol para inhibir las bacterias gram negativas; colistina y cristal violeta para inhibir las bacterias gram positivas y agar como el agente que solidifica (Díaz y Nieves 2008).

El medio Granada no es completamente selectivo para *S. agalactiae*; otras bacterias pueden crecer sobre él, principalmente especímenes rectales como *Enterococcus*, pero no puede producir colonias naranjas como SGB. También pueden desarrollarse algunas cepas de *Staphylococcus spp.* y levaduras, y ocasionalmente algún bacilo gram negativo, generalmente *Proteus*, pero no interfieren con la detección de SGB (Díaz y Nieves, 2008). La sensibilidad del medio Granada es elevada, con tasas de detección en muestras clínicas, análogas a las obtenidas tras el enriquecimiento en el caldo selectivo TH. Son frecuentes los resultados positivos en medio Granada, en muestras en que otras técnicas directas de cultivo como es el agar sangre o de detección de antígeno, son negativas (Regnath e Ignatius, 2009).

Una vez que se observa el pigmento naranja en este medio, se debe proceder a la resiembra en agar sangre de carnero y a la identificación presuntiva de la colonias compatibles con SGB. Excepcionalmente (1-2%) pueden encontrarse cepas no hemolíticas de *S. agalactiae* y que no producen pigmento, por eso debe recurrirse siempre a la confirmación serológica (Rosa *et al.*, 2006; Díaz y Nieves, 2008).

2.5.3 Métodos de diagnóstico rápido

Son disímiles los métodos que se han utilizado para el diagnóstico rápido de SGB, empleando diferentes variantes de fluorescencia y reacción en cadena de la polimerasa (RCP) (Bergeron *et al.*, 2009; Artz *et al.*, 2003; El Aila *et al.*, 2009).

Actualmente la FDA (Food and Drug Administration) aprueba para su uso en el momento del parto el IDI-Strep B (Infectio Diagnostic Inc.), que se basa en la RCP y tiene una sensibilidad del 97% y una especificidad del 100% (Block *et al.*, 2008; Montibello *et al.*, 2011).

También se ha estudiado el uso de la RCP para la detección rápida de colonización neonatal por SGB al momento del parto en el recién nacido de madre sin cultivo de tamizaje, utilizando muestras de oído, nariz, recto y aspirado gástrico. Este método presenta gran sensibilidad y valor predictivo negativo, por lo cual permite discriminar la necesidad de dar tratamiento o bien permitir un alta precoz del recién nacido sin riesgo de infección por SGB (Gupta y Briski, 2004; Natarajan *et al.*, 2006).

Por otra parte, la medición de procalcitonina para la detección de infección neonatal bacteriana, demuestra que a mayores concentraciones de esta mayor severidad del cuadro séptico. Este método es más sensible y específico que la RCP. Su desventaja está en la baja especificidad en el diagnóstico de sepsis en prematuros e hijos de madres diabéticas (Koskenvuo *et al.*, 2003; Coronell *et al.*, 2009).

Otra estrategia de detección rápida de infección por SGB en el neonato es la reacción de aglutinación con látex sobre muestras de orina. Esta técnica es útil como tamizaje por su alta sensibilidad, bajo costo y fácil implementación. Sin embargo, existe un número importante de falsos positivos (20%) debido a la habitual contaminación de la muestra por contacto con la piel del tracto urinario y perirectal. Se describe especial utilidad en aquellos recién nacidos que han recibido tratamiento antibiótico previo a la toma de cultivos o en los hijos de madres que recibieron profilaxis anteparto (Bergeron *et al.*, 2009).

2.6 Prevención, control y tratamiento

Debido a la severidad y frecuencia de la infección por SGB en recién nacidos se continúan buscando métodos para prevenir la transmisión de la madre al recién nacido, principalmente mediante el uso de antibióticos. Estas estrategias de prevención se pueden dividir en: antes del parto, durante el parto, neonatal e inmunológica (Cortés, 2005; Tapia *et al.*, 2007).

El tratamiento antibiótico en las mujeres colonizadas no es efectivo, debido a que el reservorio de SGB es el recto, donde la abundancia de bacterias gram negativas productoras de betalactamasas inactiva al antibiótico que se administra con este fin e impiden la erradicación de SGB. Cuando se suspende el tratamiento la vagina nuevamente puede ser colonizada por la bacteria, por lo que no se recomienda esta estrategia (Schrag y Schuchat, 2005; Trijebels *et al.*, 2007; Alós *et al.*, 2012).

A partir de la década de 1980 se demostró que la administración de antibióticos profilácticos durante el trabajo de parto en mujeres colonizadas por SGB o con factores de riesgo, disminuía la incidencia de enfermedad en el recién nacido (Boyer *et al.*, 1983; Boyer y Gotoff, 1986; Bromberger *et al.*, 2000). Sin embargo, su administración no fue adoptada de manera universal hasta 1996, cuando la Academia Estadounidense de Pediatría (AAPA, 1996), el Colegio Estadounidense de Obstetras y Ginecólogos (ACOG, 2002) y el Centro para el Control de las Enfermedades (CDC), redactaron unas guías de manejo en función de las siguientes dos alternativas (CDC, 1996; Sandoval *et al.*, 2008).

1. Toma de muestras vaginales y rectales para el cultivo de SGB a las mujeres embarazadas entre las 35 y 37 semanas de gestación y brindar profilaxis a las mujeres en las que se demostró colonización.
2. Administrar profilaxis antibiótica intraparto a gestantes con factores de riesgo de sepsis neonatal.

Con estas estrategias se redujo en Barcelona, España, la incidencia de infección neonatal en aproximadamente un 70% y la de enfermedad invasiva en embarazadas

(endometritis y bacteriemias) disminuyó en 21%. Sin embargo, SGB continuó siendo la principal causa de morbimortalidad neonatal en Estados Unidos por lo que se mantuvo el debate sobre cuál estrategia sería la más efectiva para identificar a las candidatas a profilaxis intraparto (Andreu *et al.*, 2003; Phares *et al.*, 2008).

En el 2002, Schrag *et al* realizaron un estudio en una población de más de 600 000 nacidos vivos, comparando la efectividad de las dos estrategias y encontraron que la estrategia basada en la prevención por medio de cultivo era un 50% más efectiva que la estrategia basada en factores de riesgo. Tomando en consideración esta nueva evidencia disponible el CDC, en ese mismo año, cambió las guías. Las recomendaciones finales se relacionan a continuación:

- Realizar tamizaje a toda mujer embarazada entre las semanas 35 y 37, identificando a las portadoras vaginales/rectales de SGB y brindando profilaxis durante el parto.
- Si alguna embarazada tiene antecedente de un recién nacido al que se le diagnosticó enfermedad invasiva por SGB, se le debe administrar profilaxis.
- Si no se conoce el resultado del cultivo en el momento del parto se debe administrar profilaxis a las embarazadas que presenten uno de los siguientes factores de riesgo: embarazo menor de 37 semanas, ruptura de membranas mayor de 18 horas, o fiebre ($\geq 38^{\circ}$ C).
- En las embarazadas con trabajo de parto prematuro (< 37 semanas) o ruptura prematura de membranas se debe brindar profilaxis.
- A las embarazadas a las que se le realice cesárea electiva no se administra profilaxis.
- La profilaxis se recomienda con bencilpenicilina (penicilina G), dosis inicial de 5 millones de unidades intravenosa (i.v) y continuar con 2,5 millones cada 4 horas hasta el parto. Un régimen alternativo es la ampicilina 2 g i.v. inicialmente, y luego 1 g cada 4 horas hasta el parto. Se prefiere la penicilina por su espectro menos amplio.
- Para las mujeres alérgicas a la penicilina, se recomienda cefazolina 2 g i.v. inicial y 1 g cada 8 horas; eritromicina 500 mg i.v. cada 6 horas o clindamicina 900 mg i.v. cada 8

horas. Si se conoce que el colonizante es resistente se debe usar vancomicina 1 g i.v. cada 12 horas.

La profilaxis con antibióticos durante el trabajo de parto se asocia con una reducción de la enfermedad de aparición temprana por SGB; sin embargo, la estrategia de tratar a todas las embarazadas en las que se demuestra colonización las expone a efectos adversos, entre ellos la reacción anafiláctica que puede ser mortal (Solensky, 2003; Jao *et al.*, 2006; Berthier *et al.*, 2007). Por eso es importante que durante el control prenatal se aclare si la paciente es realmente alérgica (Jauréguy *et al.*, 2004).

También se investiga el empleo de desinfectantes, como clorhexidina en el canal de parto o para limpiar al recién nacido, con el objetivo de reducir la transmisión vertical (CDC, 2002). Hay evidencia sugerente de que esta medida disminuiría la morbimortalidad neonatal y las infecciones maternas postoperatorias (Schrag *et al.*, 2005). Otros estudios demuestran que esta medida no tendría mayor efecto en disminuir las infecciones neonatales por SGB, sin embargo resultaría la intervención más promisoriosa en países de escasos recursos (Gibbs *et al.*, 2004).

Aunque algunos autores reportan el uso de antibióticos en los recién nacidos de madres portadoras de SGB que no recibieron profilaxis, esta estrategia no ha demostrado ser efectiva y por lo tanto, no se recomienda (American College of obstetricians and Gynecologists, 2002; Gibbs *et al.*, 2004). Es suficiente con observarlos por 24 horas, durante las cuales se presenta la enfermedad en el 90% de los recién nacidos, especialmente si se cumplen las siguientes condiciones: recién nacido > 38 semanas y profilaxis antibiótica > 4 horas. En caso de que el recién nacido presente signos de sepsis se debe iniciar el manejo antibiótico y los exámenes usuales (Schrag *et al.*, 2002; Schrag y Schuchat, 2005).

2.6.1 Prevención inmunológica

A pesar de los numerosos esfuerzos realizados y los logros alcanzados, aún no se ha podido obtener la vacuna ideal contra SGB. Sin embargo cada vez parece más aceptado que la inmunización sería la estrategia preventiva de preferencia.

Diversas investigaciones se han enfocado en obtener una vacuna que sea universalmente efectiva, segura y con la que se logre una inmunogenicidad duradera capaz de prevenir las infecciones neonatales. Esto ha sido un reto para los investigadores porque hay varios serotipos de SGB y con diferente distribución geográfica. El desarrollo de estas vacunas está basado fundamentalmente en dos estrategias: los polisacáridos capsulares (PSC) y las proteínas de membrana (Paoletti y Madoff, 2002; Cruz *et al.*, 2008).

De esta forma, por ejemplo, se probó una vacuna de PSC tipo III no conjugada en gestantes que se encontraban en el tercer trimestre de embarazo y se demostró el paso de IgG anti SGB al feto, pero la respuesta inmune lograda fue baja. Otros ensayos mejoraron su eficacia conjugando los preparados de PSC a toxoide tetánico, por ser seguro y eficiente al ser administrado a embarazadas. De esta forma se logró buena tolerancia y producción de anticuerpos capaces de prevenir la enfermedad, pero es necesario el desarrollo de una vacuna multivalente (contra al menos cinco de los serotipos más prevalentes) (Campodónico *et al.*, 2008).

También se ha intentado producir vacunas utilizando proteínas de la membrana de SGB, de esta forma se supera la necesidad de una vacuna polivalente pues estas proteínas están presentes en todos los serotipos y combinadas con el PSC de cualquier serotipo podrían estimular la producción de anticuerpos. Dentro de las proteínas capsulares se encuentran: C (alfa, beta, épsilon), Rib, R, Simil-alfa tipo V/VIII, C₅ peptidasa y Sip. Dentro de todas, Sip parece ser la candidata ideal para el desarrollo de una vacuna futura (Campodónico *et al.*, 2008).

Debido al parcial éxito logrado con las técnicas convencionales para la creación de una vacuna contra SGB, se han intentado nuevas estrategias basadas en la utilización de técnicas genómicas y proteómicas (Campodónico *et al.*, 2008).

2.7 Susceptibilidad antimicrobiana de SGB

S. agalactiae de manera general es sensible a penicilina, penicilinas sintéticas, eritromicina y cefalosporinas de 1^{ra}, 2^{da} (excepto cefoxitima) y las de 3^{era} generación,

aunque algunas cepas pueden presentar sensibilidad disminuida a la penicilina y requerir de concentraciones mayores que las utilizadas para otras especies de *Streptococcus*, lo que hace necesario incluir en el tratamiento otros antibióticos (Fiore et al., 2001; Rodríguez et al., 2007). Esto explica las fallas que se reportan en el tratamiento de SGB con penicilina (Bland et al., 2001; Al-Sweih et al., 2005; Castor et al., 2008).

Para SGB también se describe resistencia de bajo nivel a los aminoglucósidos y elevada para la tetraciclina (95%); para la eritromicina se refieren niveles de resistencia entre 7,4% y 16% de resistencia (Quentin et al., 2002; Figueroa et al., 2006). Sin embargo, estudios recientes ponen de manifiesto un aumento de la resistencia de SGB a eritromicina y clindamicina lo que plantea problemas a la hora de elegir la profilaxis antibiótica más adecuada en las gestantes alérgicas a los betalactámicos (Croak et al., 2003; Abarzúa et al., 2011).

En Cuba, en correspondencia con los escasos estudios que existen acerca de la prevalencia de SGB en gestantes, hay también desconocimiento con relación al comportamiento de la susceptibilidad de esta bacteria frente a los antimicrobianos empleados en la profilaxis neonatal.

DISEÑO METODOLÓGICO

III. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 Tipo de estudio y diseño general

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal para determinar la prevalencia de la colonización vaginal y rectal por SGB en la población de gestantes entre 35 y 37 semanas del Municipio Melena del Sur, provincia Mayabeque, entre febrero y agosto del 2011. La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Diagnóstico Microbiológico del Municipio Melena del Sur, en colaboración con el departamento de Bacteriología-Micología del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (IPK) y en coordinación con las autoridades de salud locales.

3.2 Universo y muestra

Para determinar el universo y muestra del estudio se revisó y actualizó mensualmente el censo de embarazadas de la localidad. Finalmente, el universo estuvo constituido por 132 gestantes del municipio Melena del Sur que en el período de estudio se encontraban entre 35 y 37 semanas de gestación. Al aplicar los siguientes criterios de inclusión la muestra quedó constituida por 120 gestantes.

3.2.1 Criterios de inclusión

- Gestantes entre 35 y 37 semanas de embarazo en el período de estudio.
- Con residencia en el municipio Melena del Sur.
- Que no recibieran tratamiento antimicrobiano por vía oral o parenteral en las dos semanas previas a la toma de la muestra.
- Que dieran su consentimiento para participar en el estudio (Anexo #2).

3.2.2 Criterios de exclusión

- Gestantes fuera del período de gestación indicado en el momento de la realización del estudio.
- Con residencia en otro municipio.
- Que recibieran tratamiento antimicrobiano en las dos semanas previas al estudio.
- Que no dieran su consentimiento para participar.

3.3 Consideraciones éticas

El protocolo de esta investigación se discutió con las autoridades de salud del municipio Melena del Sur. Tras su aprobación por la dirección municipal de salud y el responsable del PAMI del municipio, se les solicitó a las gestantes el consentimiento informado para participar de manera voluntaria y gratuita en el estudio. Previamente se les explicó cómo se realizaría este, empleando un lenguaje claro y sencillo para facilitar la comprensión, haciendo hincapié en la voluntariedad, su importancia para el desarrollo de la medicina, así como el beneficio para la gestante y el niño al realizar un diagnóstico adecuado y oportuno (Anexo #2).

3.4 Recolección de los exudados vaginales y rectales

De cada paciente se obtuvieron dos exudados vaginales y dos exudados rectales. Para la realización de los mismos se colocó a la gestante en posición ginecológica con apertura suave de labios mayores y menores hasta visualizar el orificio vaginal, sin utilizar espéculo. Se emplearon hisopos de algodón estériles, de mango plástico. Se realizó un frotis del tercio inferior de la vagina (introito). Para la muestra rectal se realizó un frotis tras introducir el hisopo de 2 a 3 cm a través del esfínter anal (CDC, 2002).

Las muestras se obtuvieron en el propio laboratorio de Microbiología de Melena del Sur y se sembraron directamente en los medios de cultivo para el aislamiento primario, por lo que no se requirió de medios de transporte (Teese *et al.*, 2003).

3.5 Procesamiento de los exudados vaginales y rectales

3.5.1 Medios de cultivo para el aislamiento de SGB

Para el aislamiento primario de SGB a partir de exudados vaginales y rectales se emplearon el caldo TH suplementado y el medio Granada (Adler *et al.*, 2008).

El caldo TH se distribuyó en tubos 100 x 13 mm, a razón de 3 mL por tubo, de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Oxoid) y se suplementó con ácido nalidíxico (15 µg/mL) y sulfato de gentamicina (8 µg/mL). El medio Granada se preparó a partir de los constituyentes primarios, según se muestra en el Anexo #3 y se suplementó con metronidazol (100 mg/L) y colistina (50 mg/L).

Como controles de calidad de ambos medios de cultivo se utilizaron las cepas *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Cándida albicans* ATCC 267 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Todas conservadas en la colección de cultivos del Departamento de Bacteriología-Micología del IPK.

3.5.2 Procesamiento de las muestras

La metodología que se siguió se describe en el algoritmo que se muestra en la figura #1. Los exudados (vaginal y rectal) de una misma embarazada se inocularon paralelamente en caldo TH y el medio Granada.

En el caso del medio Granada, una vez transcurrido el tiempo de incubación se procedió a la identificación, tomando en cuenta la aparición de pigmento naranja como indicativo de SGB; sino apareció pigmento se descartó el tubo (Figura #1). Para el caldo TH suplementado, una vez transcurrido el tiempo de incubación se procedió a la resiembra en agar sangre de carnero y se tomó en cuenta la aparición de colonias β hemolítica pequeñas y opalescentes.

Para la identificación de los aislamientos sugerentes de SGB recuperados empleando ambos medios se realizó: tinción de Gram, determinación de la enzima catalasa, la prueba de CAMP y la determinación de antígenos de SGB por la técnica de aglutinación a las partículas de látex (Kit Prolex TM Streptococcal Grouping Látex) (Picard *et al.*, 2004).

3.6 Estudio de la susceptibilidad antimicrobiana

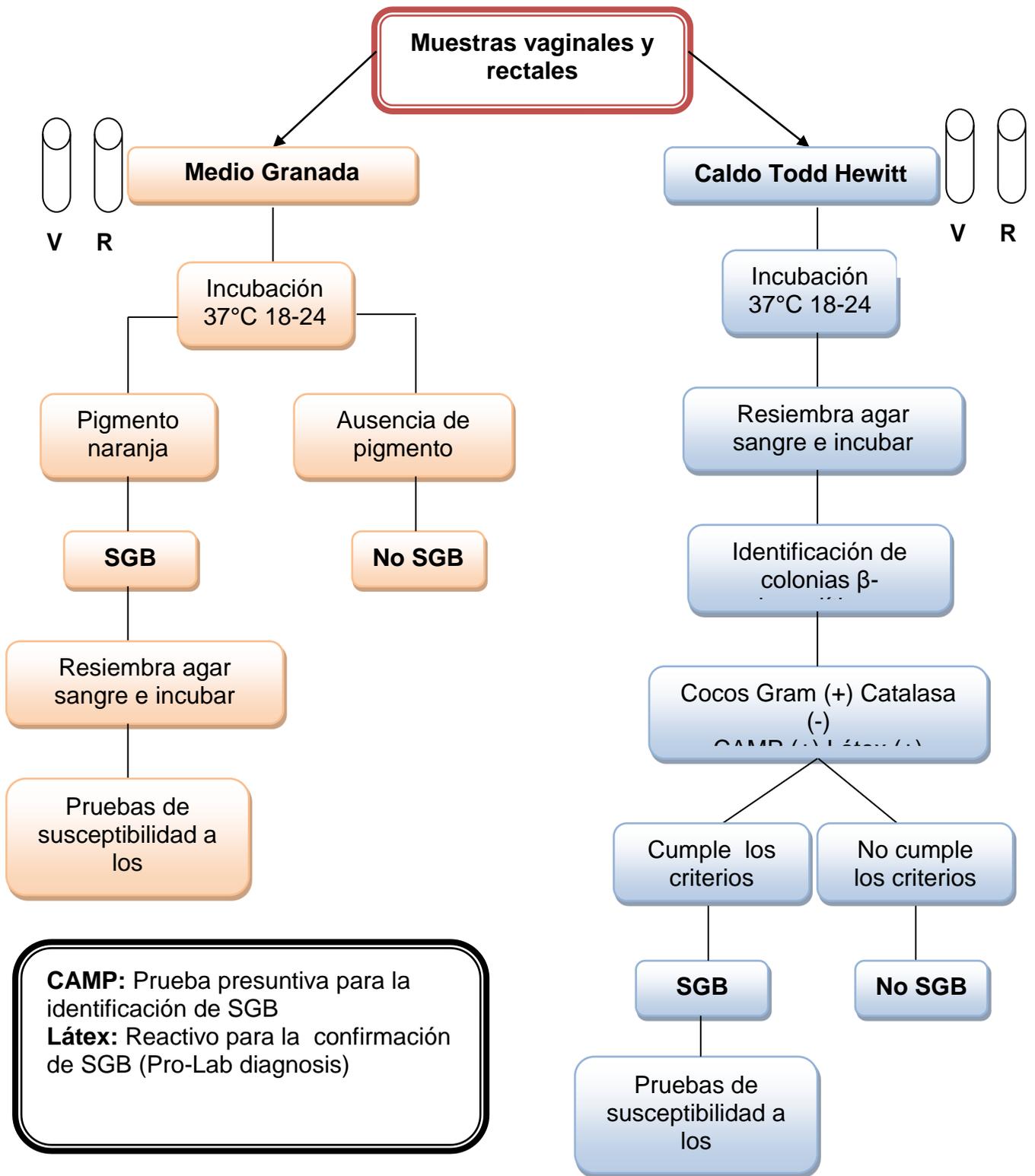
La susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos identificados como SGB se estudió por el método de difusión en placa o Kirby- Bauer. Se empleó el medio agar Mueller-Hinton suplementado con un 5% de sangre de carnero y se incubó a 37°C por 24 h, en atmósfera de un 5% de CO₂. Se probaron las siguientes drogas antimicrobianas: penicilina G (P) 10 µg, ceftriaxona (CRO) 30 µg, imipenem (IMI) 10 µg, vancomicina (VA) 30 µg, eritromicina (E) 15 µg, tetraciclina (TE) 30 µg, ciprofloxacina (CIP) 5 µg y cloranfenicol (C) 30 µg (CLSI, 2012).

3.7 Seguimiento de los casos en que se demostró colonización por SGB.

En coordinación con el PAMI municipal se dio seguimiento a las gestantes en las que se demostró colonización vaginal o rectal por SGB, resultado que se reflejó oportunamente en el carnet obstétrico, acompañado de la susceptibilidad antimicrobiana demostrada. De esta forma se recaudó información acerca de la aparición de factores de riesgo para el desarrollo de sepsis neonatal: ruptura prematura de membranas (RPM), parto pretérmino (PP), fiebre intraparto e infección del tracto urinario (ITU) durante la gestación; así como sobre la imposición o no de la profilaxis antibiótica intraparto.

En caso de que se produjera una sepsis neonatal se investigó el tipo de sepsis y su evolución.

Figura #1. Algoritmo de trabajo para el procesamiento de los exudados vaginales (V) y rectales (R)



3.8 Análisis y procesamiento de la información

La información se almacenó en una base de datos utilizando el programa Microsoft Excel (Windows) y se empleó el software estadístico SPSS versión 18. Para el análisis exploratorio de los datos se emplearon tablas de frecuencias y gráficos de barras y de pastel.

Se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del medio Granada con respecto al caldo TH suplementado con antibióticos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Detección de *S. agalactiae* a partir de exudados vaginales y rectales.

En la tabla #2 se muestra cómo se comportó la colonización por SGB de acuerdo al sitio anatómico de donde se obtuvo la muestra: vagina, recto o ambos.

Tabla #2. Recuperación de *S. agalactiae* a partir de exudados vaginales y rectales realizados a 120 gestantes del municipio Melena del Sur, febrero-agosto 2011.

Muestra	Cultivos positivos para <i>S. agalactiae</i>	
	n	%
Vagina	13	10,8
Recto	9	7,5
Ambos	11	9,1
Total	33	27,5

Fuente: Laboratorio de Microbiología Melena del Sur.

El mayor porcentaje de colonización se encontró en las muestras procedentes de vagina (13, lo que representó el 10,8%); a partir de exudados rectales se demostraron otros nueve casos de colonización (7,5%) y para 11 embarazadas (9,1%) se logró el aislamiento a partir de ambos sitios anatómicos.

De manera similar, en un estudio realizado en Chile, que incluyó 206 gestantes, se demostró que el cultivo de los exudados rectales incrementa la posibilidad de detectar la colonización por SGB entre las embarazadas. En dicha investigación se encontró que 26 gestantes (12,6%) estaban colonizadas; el aislamiento de SGB a partir de exudados

vaginales se logró en 11 de ellas, para otras ocho se demostró la colonización a través del cultivo del exudado rectal y siete resultaron positivos para ambos (Valdés *et al.*, 2003). En cambio Rivas *et al.*, en un estudio en Montevideo, Uruguay, que involucró 246 gestantes, demostraron un predominio de colonización rectal por SGB (86,2%), aunque también expusieron un número importante de casos (70,5%) a través del cultivo de muestras procedentes de la vagina (Rivas *et al.*, 2006).

Los resultados del presente estudio ratifican la importancia de la toma de ambos tipos de muestra (vaginal y rectal), pues únicamente con el exudado vaginal no se habría garantizado la demostración de la colonización por SGB en todos los casos.

4.1.1 Prevalencia de la colonización vaginal/rectal por SGB.

El análisis de los resultados positivos para SGB a partir de los cultivos de las muestras vaginales y rectales permite concluir que la prevalencia de colonización en la población de gestantes estudiadas fue de 27,5% (33 embarazadas) (Figura #2).

Estudios de prevalencia de SGB entre gestantes de países industrializados muestran tasas de colonización que varían entre el 5 y 35%, dependiendo de la población estudiada, la ubicación geográfica, la región anatómica de obtención de la muestra (vaginal o rectal) y el medio de cultivo utilizado (selectivo o no) (Schrag *et al.*, 2002; Valdés *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2008). De esta forma, Estados Unidos e Inglaterra reportan una prevalencia cercana al 20% (Apgar *et al.*, 2005; Bergeron *et al.*, 2009) y países en vías de desarrollo, como Argentina, valores que oscilan entre 5 y 18% (Di Bartolomeo *et al.*, 2005; Tamaris *et al.*, 2004). El estudio en Montevideo antes citado demostró una prevalencia muy próxima a la encontrada en esta investigación (25,2%) (Rivas *et al.*, 2006).

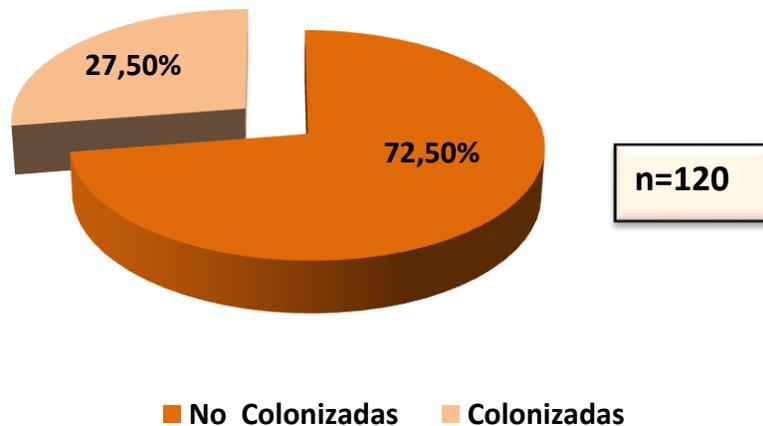


Figura #2. Colonización vaginal/rectal por *S. agalactiae* entre la población gestantes de Melena del Sur, febrero-agosto 2011.

Fuente: Laboratorio de Microbiología Melena del Sur.

La coincidencia con los reportes de otros países señalan la necesidad de implementar en Cuba el tamizaje de la colonización por SGB en las embarazadas entre 35 y 37 semanas de gestación y sugiere que la tasa de transmisión vertical y enfermedad en los neonatos también podría ser alta.

4.2 Sensibilidad para la detección de SGB de los medios de cultivo empleados.

En el presente estudio, atendiendo a la recomendación del CDC de emplear medios líquidos enriquecidos, selectivos y suplementados con antibióticos para maximizar la recuperación de SGB a partir de exudados vaginales y rectales de embarazadas entre las 35 y 37 semanas, se decidió el empleo del caldo TH y su comparación con el medio Granada (CDC, 2002).

En la figura #3 se muestran dos casos positivos para SGB en medio Granada, a partir de exudados vaginales. La producción de un pigmento naranja alrededor del hisopo sugiere, con muy alta probabilidad, la presencia de la bacteria en la muestra, es por eso este medio se erige como una alternativa cómoda y rápida para su detección.

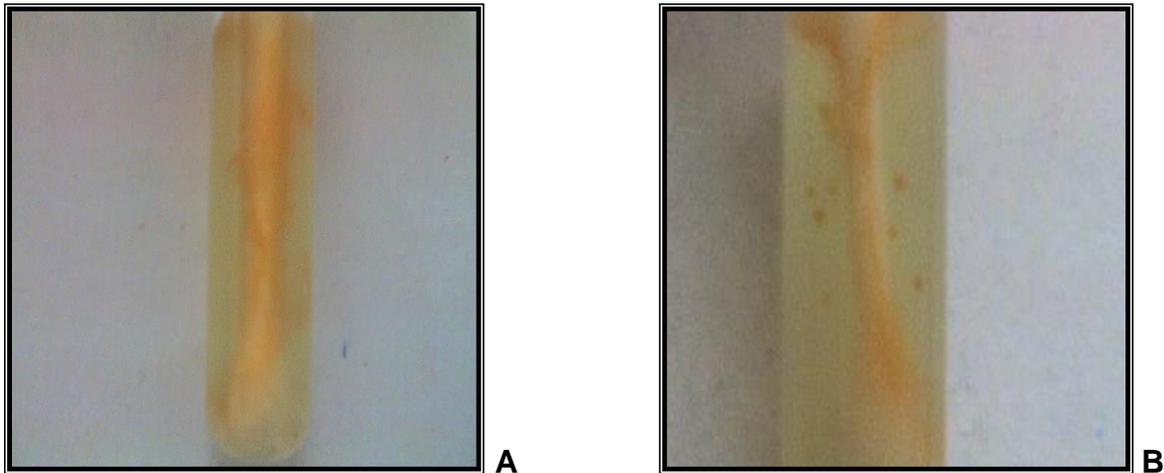


Figura #3. Crecimiento de *S. agalactiae* en el medio Granada.

A y B. Producción de pigmento alrededor del hisopado vaginal de las gestantes 7 y 51, respectivamente. Estudio en el municipio Melena del Sur, febrero-agosto 2011.

En la tabla #3 se resume como se comportó la recuperación de SGB en el medio Granada con respecto al caldo TH, que constituye el método de referencia. Con la utilización del medio Granada se recuperaron 22 aislamientos que se identificaron como SGB (18,3%) y con el caldo TH se obtuvieron 28 aislamientos positivos para SGB (23,3%). Para cinco de los casos que resultaron negativos empleando el caldo TH fue posible confirmar colonización con el cultivo de los exudados sobre el medio Granada. De forma contraria, el caldo TH reveló 11 casos positivos que no pudieron demostrarse con el medio Granada. La combinación del empleo de ambos medios de cultivo avaló la demostración de colonización por SGB en 33 de las gestantes incluidas en el estudio.

Tabla #3. Recuperación de *S. agalactiae* empleando caldo TH y medio Granada a partir de exudados vaginales y rectales de 120 gestantes del municipio Melena del Sur, febrero-agosto 2011.

Medios de cultivo utilizados	Caldo Todd Hewitt Negativo SGB	Caldo Todd Hewitt Positivo SGB	Total
Granada - Negativo SGB	87	11	98
Granada - Positivo SGB	5	17	22
Total	92	28	120

Fuente: Laboratorio de microbiología Melena del Sur.

Adler *et al.*, en un estudio comparativo de sensibilidad del medio Granada con respecto al caldo TH a partir de muestras vaginales y rectales, en 297 gestantes en Jerusalem, describen una mayor recuperación de SGB con el medio Granada: 58 casos contra 46 demostrados con el caldo TH (Adler *et al.*, 2008). En cambio, otro estudio que involucró 362 embarazadas en Medellín, Colombia, coincide con la presente investigación al detectar más casos a través del cultivo en caldo TH: 9 aislamientos (42,8%) recuperados en TH contra 5 (23,8%) revelados en medio Granada (Duque *et al.*, 2010).

La comparación de los resultados por ambos medios de cultivo permitió determinar para el medio Granada los parámetros que se muestran en la tabla #4. La especificidad lograda con el medio Granada fue alta (94,57%) y para explicar la razón por la que esta no alcanzó el valor máximo, se impone retomar en este punto los cinco casos que se detectaron con el medio Granada pero que no se confirmaron con el medio de referencia (Tabla #3).

Tabla #4. Parámetros de calidad del medio Granada con respecto al caldo Todd Hewitt para la recuperación de *S. agalactiae* a partir de exudados vaginales y rectales de gestantes del municipio Melena del Sur, febrero-agosto 2011.

Medio Granada	Valor (%)	IC (95%)	
Sensibilidad	60,71	40,84	80,59
Especificidad	94,57	89,39	99,74
Índice de validez	86,67	80,17	93,17
Valor predictivo positivo	77,27	57,49	97,06
Valor predictivo negativo	88,78	82,02	95,54

Fuente: Laboratorio de microbiología Melena del Sur.

No obstante a la buena especificidad demostrada, la sensibilidad fue de solo un 60,71% y los valores predictivos positivos y negativos de 77,27% y 88,78%, respectivamente. Estos resultados están en correspondencia con lo que refieren Duque *et al.*, quienes alcanzaron solo un 44% (IC 95% 0,19-0,68) de sensibilidad al emplear el medio Granada pero con una alta especificidad 99% (IC 95% 0,97-1), un valor predictivo negativo de 97% (IC 95% 0,96- 0,99) y un valor predictivo positivo de 58% (IC 95% 0,37-0,88) (Duque *et al.*, 2010). También Bosch *et al.*, informan que el caldo selectivo TH es más eficaz para recuperar SGB que el medio Granada (Bosch *et al.*, 2003).

Entre las razones que pudieran haber condicionado la baja sensibilidad puesta de manifiesto para el medio Granada en el presente estudio, hay que destacar que este se elaboró en el laboratorio a partir de los constituyentes primarios por no existir

disponibilidad del medio comercial (Acápite 3.5.1, Diseño metodológico). En este sentido también es importante señalar que el medio Granada es selectivo y diferencial para SGB pero no constituye un medio de enriquecimiento como el caldo TH. (Adler *et al.*, 2008).

No obstante las ventajas que aporta el empleo del medio Granada, este no desplaza al cultivo en caldo TH como el método de referencia. Los resultados obtenidos en el presente estudio y por otros mencionados en este documento, avalan al caldo TH como medio selectivo de referencia que cumple con las exigencias para el desarrollo de SGB, pues cuenta además en su composición con ácido nalidíxico y gentamicina, antibióticos que inhiben el desarrollo de otros gérmenes que pueden interferir en el aislamiento (Orsello y Dommermuth, 2003; Duque *et al.*, 2010).

4.3 Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos de SGB recuperados.

En la figura #4 se muestran los resultados de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* realizadas a los aislamientos de *S. agalactiae* recuperados durante el estudio. Los mayores porcentajes de sensibilidad fueron para ciprofloxacina y vancomicina (79,5%), seguido de cloranfenicol (70,5%), ceftriaxona (68,2%) y tetraciclina (52,3%). Para imipenem, penicilina y eritromicina un alto por ciento de aislamientos se revelaron como resistentes (95,5 y 59,1 y 36,4%, respectivamente). En la figura #5 se muestran imágenes de los resultados de la prueba de susceptibilidad antimicrobiana para dos de los aislamientos de *S. agalactiae*, que se mostraron resistentes a penicilina y eritromicina.

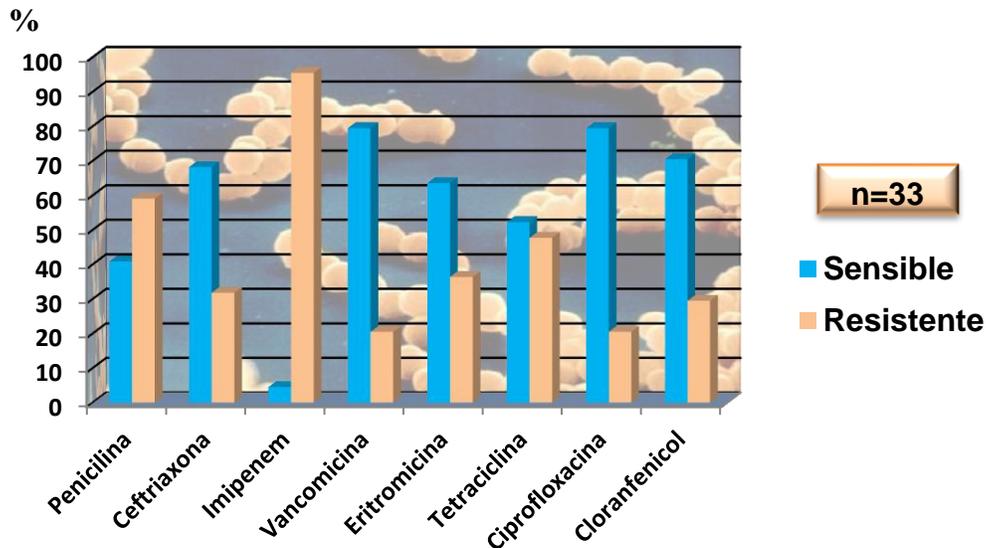


Figura #4. Susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos de *S. agalactiae* recuperados a partir de exudados vaginales y rectales de 120 gestantes del municipio Melena del Sur, febrero-agosto 2011.

Fuente: Laboratorio de microbiología Melena del Sur.

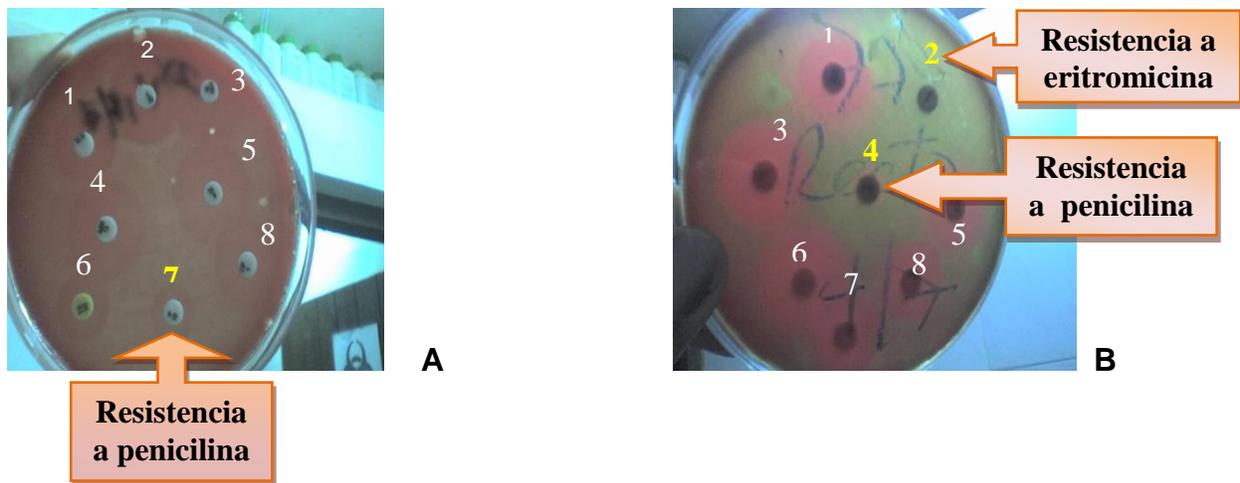


Figura #5. Susceptibilidad de los aislamientos de *S. agalactiae* No.25 (A) y No.77 (B) frente a los antimicrobianos probados (Leyenda A: 1-vancomicina, 2-cloranfenicol, 3-ceftriaxona, 4-imipenem, 5-eritromicina, 6-tetraciclina, 7-penicilina, 8-ciprofloxacina y B: 1-vancomicina, 2-eritromicina, 3-cloranfenicol, 4-penicilina, 5-imipenem, 6-tetraciclina, 7-ceftriaxone, 8-ciprofloxacina).

Por ejemplo, Belmar *et al.*, en un estudio realizado en Chile entre 183 aislamientos de SGB definieron un 100% de sensibilidad a penicilina, ampicilina, cefazolina y vancomicina, con una discreta resistencia a clindamicina y eritromicina (solo 3,3 y 1,1%, respectivamente) (Belmar *et al.*, 2002). Abarzúa *et al.*, en un estudio posterior también en Chile, corroboran esta observación pero informan un incremento de la resistencia para clindamicina y eritromicina (13 y 17%, respectivamente) (Abarzúa *et al.*, 2011).

Simoës *et al.*, al determinar la resistencia de aislamientos *S. agalactiae* obtenidos a partir de exudados vaginales de mujeres no embarazadas y aislamientos responsables de sepsis en recién nacidos encontraron un 19,2% de resistencia a clindamicina y un 25% para eritromicina, pero tampoco reportaron resistencia a penicilina ni ampicilina, aunque sí susceptibilidad intermedia para estas drogas, entre el 15,4 y 17,3% de los aislamientos, respectivamente (Simoës *et al.*, 2004).

Otro estudio multicéntrico para evaluar la susceptibilidad *in vitro* de 610 aislamientos de *S. agalactiae* procedentes de exudados vaginales de mujeres embarazadas y de LCR de neonatos menores de 7 días en España, demostró de la misma forma, un 11,8% de resistencia para la clindamicina y de 12,5% para la eritromicina (González y Andreu, 2004).

De manera general, durante los últimos tres años, en regiones tan diferentes como Australia y Malasia, también se demuestran resistencias relativamente bajas tanto a clindamicina (4,2 y 2,5%) como a eritromicina (6,4 y 4%) y se concluye que no se produjeron modificaciones en el patrón de susceptibilidad a macrólidos entre los períodos 1982-2001 y 2002-2006 (Garland *et al.*, 2011).

En cambio, desde Egipto y Tanzania se comunican resistencias más elevadas, en concordancia con lo que se observó en el presente estudio (Shabayek *et al.*, 2009; Joachim *et al.*, 2009). Se suman a estos reportes el de Gyax *et al.* (2006) en una investigación en Estados Unidos para la determinación de genes de resistencia entre 222 aislamientos de *S. agalactiae*, en el que obtuvieron para clindamicina y eritromicina valores de resistencia de 21 y 38%, respectivamente. También Wu *et al.*, (2008), en

Taiwán demuestran valores superiores de resistencia a clindamicina y eritromicina (62 y 65%, respectivamente).

Cabe destacar que todos estos estudios coinciden en resaltar el hecho de que aún no existe resistencia a penicilina ni ampicilina. Sólo la experiencia de Tanzania permite informar una resistencia de 9,4% de resistencia a penicilina, aunque el 100% de los aislamientos se mostraron susceptibles a ampicilina, lo que ratifica a ambos antimicrobianos como de elección para la profilaxis intraparto (Joachim *et al.*, 2009).

En este sentido es entonces alarmante que el 59,1% de los aislamientos de SGB recuperados de exudados vaginales de embarazadas en el municipio Melena del Sur sean resistentes a penicilina. A nivel mundial estas pruebas no se indican de manera rutinaria y tampoco a nivel nacional, por lo que resulta imposible comentar la naturaleza de esta aparente modificación en el patrón de susceptibilidad a penicilina y macrólidos. Los escasos estudios cubanos disponibles dan por sentada la eficacia de estas drogas en el tratamiento; por ejemplo, un estudio realizado por Díaz *et al.*, acerca de la infección por *S. agalactiae* en niños después del período neonatal, reporta 100% de sensibilidad para penicilina, vancomicina, ceftriaxona, cloranfenicol, ciprofloxacina e imipenem y un 97% para eritromicina (Díaz *et al.*, 2006).

Ante el alto por ciento de aislamientos no susceptibles a penicilina demostrado durante el presente estudio, resultado totalmente inesperado, la explicación más lógica se encuentra en el método utilizado para su detección. Por eso, todos los aislamientos con diámetros de inhibición < 24 mm alrededor del disco de penicilina, deberán ser estudiados a través del método de la determinación de la concentración mínima inhibitoria en el laboratorio nacional de referencia para Microbiología (Laboratorio Bacteriología-Micología, IPK).

Aunque los resultados del estudio de la susceptibilidad en relación a la penicilina y eritromicina deberán ser corroborados en investigaciones posteriores a estas, puede sugerirse que el incremento de la resistencia obedezca a la “presión ecológica” que ejerce el uso de ambas drogas en el tratamiento de otras patologías médicas, como por ejemplo las respiratorias y en obstetricia, en el manejo de corioamnionitis y

endometritis en el puerperio (Oyarzún, 1997; Manning *et al.*, 2003; Abarzúa *et al.*, 2011).

Estos resultados obligan a vigilar la resistencia antimicrobiana de SGB en cada centro asistencial, a través de la realización de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana sistemáticamente a todos los aislamientos que se recuperen. Al mismo tiempo realzan la importancia del manejo responsable y adecuado de los tratamientos de elección recomendados para evitar el incremento de la resistencia y el eventual fracaso terapéutico en otras patologías del embarazo y los riesgos de morbi-mortalidad neonatal.

4.4 Factores de riesgo obstétricos para la infección neonatal identificados en el momento del parto.

En el momento del parto solo seis de las 33 embarazadas colonizadas por SGB (18,2%) presentaron algunos de los factores de riesgo obstétricos descritos para el desarrollo de sepsis neonatal (Tabla #5) (Kovavisarach *et al.*, 2007).

Para dos de las gestantes se presentó fiebre intraparto $>38^{\circ}\text{C}$; en una, el parto se produjo a las 36 semanas; en otras dos se registró la RPM acompañada de fiebre; y en otra, la RPM se presentó antes del término de la gestación (36,2 semanas).

Andreu *et al.*, en un estudio en España, encontraron en el momento del parto un porcentaje de gestantes con factores de riesgo obstétrico para el desarrollo de sepsis neonatal similar al que se informa en el presente estudio (11,2%), que se correspondió con 37 embarazadas, todas colonizadas por SGB. Sin embargo, identificaron factores de riesgo obstétricos para el desarrollo de sepsis neonatal en un mayor número de gestantes: fiebre intraparto $>38^{\circ}\text{C}$ (en ocho de las gestantes); RPM (en otras nueve); parto pretérmino (cuatro); RPM acompañada de fiebre (seis); parto pretérmino acompañado de fiebre (una); parto pretérmino y RPM (seis); parto pretérmino más fiebre y RPM (una); y en otras dos, se presentó ITU dos semanas antes de que se produjera el parto, con urocultivo positivo a SGB (Andreu *et al.*, 2007).

Tabla #5. Factores de riesgo obstétricos para el desarrollo de infección neonatal identificados en el momento del parto entre las gestantes colonizadas por SGB, municipio Melena del Sur, febrero-agosto 2011.

	Fiebre intraparto	Parto pretérmino	Fiebre más ruptura prematura de membrana	Ruptura prematura de membrana más parto pretérmino
Gestantes colonizadas	2 (6,1%)	1 (3,0%)	2 (6,1%)	1 (3,0%)

Fuente: Historia clínica del hospital materno infantil.

4.4.1 Conducta seguida para la prevención de sepsis neonatal y resultados.

Todas las gestantes (seis) en las que se identificaron factores de riesgo obstétricos para la infección neonatal recibieron tratamiento antibiótico profiláctico intraparto en correspondencia con la recomendación del CDC (2002) y tomando en consideración el resultado precedente del antibiograma realizado cuando se demostró la colonización por SGB durante este estudio. Para dos de las gestantes se utilizó la penicilina; en otras dos cefazolina; en una, cloranfenicol; y en otra, ceftriaxona.

Como una de las embarazadas colonizadas con SGB tuvo parto gemelar, el total de recién nacidos ascendió a 34; para cuatro de ellos se registró sepsis neonatal de inicio temprano: un caso de bronconeumonía con hemocultivo positivo a SGB y tres casos con cultivos periféricos positivos a SGB (otitis, onfalitis y absceso mamario). Todos evolucionaron satisfactoriamente a la terapéutica impuesta por los servicios de neonatología.

De acuerdo con estas observaciones, la ocurrencia de sepsis neonatal debida a SGB fue de 11,76% (4 neonatos de 34 nacidos de madres colonizadas), muy por encima del 2 - 4% referido por otros estudios (Schrag *et al.*, 2002; Matheus, 2009; Barajas y Báez, 2011). Obviamente, esta constituye una observación puntual que no resulta suficiente para comunicar con seguridad la incidencia de sepsis neonatal por SGB en el municipio Melena del Sur en el período febrero-agosto 2011 y deberá ser corroborada en estudios posteriores, tanto a nivel regional como nacional.

Por otra parte, hubo total congruencia en lo referente a que en la mayoría de los niños nacidos de madres colonizadas que desarrollan la enfermedad, esta se presenta como sepsis y en solo el 10% como meningitis, del que no se reportó ningún caso durante esta fase final del estudio (Schrag *et al.*, 2002).

Para solo uno de los neonatos (el que desarrolló la onfalitis) la sepsis se instauró a pesar de que la madre recibiera tratamiento en el momento del parto, tras constatarse factores de riesgo obstétricos. No obstante, la terapéutica antibiótica intraparto impuesta resultó efectiva en la prevención de sepsis neonatal en los otros cinco casos.

Inmediatamente después de la administración endovenosa del antibiótico que se decida para la terapia intraparto, este alcanza concentraciones adecuadas en el plasma fetal pero se precisa de un tiempo mayor (más 2 horas) para lograr niveles adecuados en las secreciones vaginales maternas que impidan la colonización externa, así como niveles óptimos para la prevención de la infección en órganos (Andreu *et al.*, 2007). Esto podría explicar el fracaso de la terapéutica antibiótica observada en el caso del neonato que desarrolló la onfalitis, en el que la buena práctica obstétrica impuso una extracción rápida del feto, probablemente antes de que se logaran las concentraciones óptimas del antibiótico que se administró.

Por otra parte, la observación de sepsis neonatal en otros tres casos para los que no se administró terapia intraparto, por no presentar las gestantes factores de riesgo de sepsis neonatal, obliga entonces a reflexionar acerca de la estrategia de tratar a todas

las gestantes en las que se demuestre colonización por SGB entre las 35 y 37 semanas de embarazo. Esta conducta podría programarse de antemano y se garantizaría así la imposición de la terapia intraparto con al menos dos horas de antelación al nacimiento.

CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES

- ❖ A partir de los exudados vaginales se recuperó un mayor número de aislamientos de SGB pero fue la integración de este resultado con el del estudio de los exudados rectales lo que permitió determinar la prevalencia de colonización por esta bacteria entre la población de gestantes estudiadas.
- ❖ El empleo simultáneo del caldo TH y el medio Granada garantiza la demostración de colonización vaginal/rectal en un mayor número de gestantes pero los resultados avalan al caldo TH como el medio selectivo de referencia para este propósito.
- ❖ Los resultados del estudio de la susceptibilidad antimicrobiana plantean la necesidad de realizar estas pruebas ante cada caso de colonización para asegurar un manejo más responsable de las terapias recomendadas en el tratamiento intraparto.
- ❖ Se constataron en el momento del parto los diferentes factores obstétricos descritos como de riesgo para el desarrollo de sepsis neonatal por SGB y se hizo evidente la importancia de una intervención sanitaria para interceptar la transmisión vertical de la bacteria siempre que se demuestre colonización vaginal/rectal entre las 35 - 37 semanas de gestación.
- ❖ La alta prevalencia (27,5%) de colonización vaginal/rectal por SGB estimada para la población de gestantes de Melena del Sur, entre febrero-agosto 2011, indica la necesidad de estudios similares en otras localidades y de investigaciones que permitan conocer a nivel nacional el peso de este factor en la incidencia de la sepsis neonatal de inicio temprano.

RECOMENDACIONES

VI. RECOMENDACIONES

- ❖ Informar los resultados de este estudio al PAMI e insistir en la necesidad de replicarlo en otras localidades del país para fundamentar con datos nacionales la necesidad de incorporar el tamizaje para la determinación de colonización vaginal/rectal por SGB al término del embarazo, así como las recomendaciones para la terapia intraparto.
- ❖ Estudiar la susceptibilidad a penicilina por el método de la determinación de la concentración mínima inhibitoria para todos los aislamientos que se revelaron como no susceptibles a este antimicrobiano, a través del método de difusión en disco.

*REFERENCIAS
BIBLIOGRÁFICAS*

I. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarzúa F, Guzmán AM, Belmar C, Becker J, García P, Oyarzún E. Prevalencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* (grupo B) en el tercer trimestre del embarazo. Evaluación del cultivo selectivo. Rev Chil Obstet Ginecol 2002;67(2):89-93.
- Abarzúa F, Arias A, García P, Ralph C, Cerda J, Riedel I, Gárate C. Aumento de resistencia de *Streptococcus agalactiae* vaginal-anal en el tercer trimestre de gestación a eritromicina y clindamicina al cabo de una década de tamizaje universal. Rev Chil Infect 2011;28(4):334-7.
- Adler A, Block C, Engelstein D, Hochner-Celnikier D, Draï-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(3):241-243.
- Alegría G, Czwiklitzer G, Cortés JM, Robles G, Paz M, Saffie I. Infección temprana por Estreptococo beta hemolítico grupo B (EGB). Rev Obstet Ginecol 2007;2(1):67-70.
- Alós JJ, Andreu A, Arriba L, Cabero L, De Cueto M, López J, Melchor JC, Puertas A, De la Rosa M, Salcedo S, Sánchez M, Torrejón R. Prevención de la infección perinatal por *Streptococcus* grupo B. Recomendaciones Españolas. Actualización 2012. Infecc Microbiol Clin 2012;30(20):30-44.
- Alsina L, Iriando M, Muñoz C, Borrás M, Pou J, Juncosa T, Jiménez R. Evaluación de la aplicación del cribado de estreptococos del grupo B para la prevención de la infección perinatal en un hospital de tercer nivel. Enferm Infecc Microbiol Clin 2006;24:505-8.
- Al-Sweih N, Jamal M, Kurdia M, Abduljabar R, Rotimi V. Antibiotic susceptibility profile of group B *Streptococcus* (*Streptococcus agalactiae*) at the Maternity Hospital, Kuwait. Med Princ Pract 2005;14(4):260-3.
- American Academy of Pediatrics (AAP). Committees on Infectious Diseases and on Fetus and Newborn. Guidelines for prevention of group B streptococcal (GBS) infection by chemoprophylaxis. Pediatrics 1996;90:775-7.

- American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Committee Opinion: number 279, December 2002. Prevention of early onset group B streptococcal disease in newborns. *Obstet Gynecol* 2002;100:1405-12.
- Andreu A, Salcedo S, Heredia F, González J, Bartolomé RM, Cabero LI. Características de la transmisión vertical madre-feto del estreptococo del grupo B. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007;46(4):383-88.
- Andreu A, Sanfeliu I, Viñas L, Barranco M, Bosch J, Dopico E, et al. Declive de la incidencia de la sepsis perinatal por estreptococo del grupo B (Barcelona 1994-2001). Relación con las políticas profilácticas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003;21(4):174-9.
- Apgar BS, Greenberg G, Yen G. Prevention of group B streptococcal disease in the new born. *Am Fam Physician* 2005;71:903-10.
- Artz LA, Kempf VA, Autenrieth IB. Rapid screening for *Streptococcus agalactiae* in vaginal specimens of pregnant women by fluorescent in situ hybridization. *J Clin Microbiol* 2003;41(5):2170-3.
- Barajas NC, Báez M. Enfermedad neonatal temprana por *Streptococcus agalactiae* en una unidad de recién nacidos, factores de riesgo materno-fetales asociados a severidad y mortalidad. *Revista Ciencias de la Salud* 2011;9(3):251-258.
- Bland ML, Vermillion ST, Soper DE, Austin M. Antibiotic resistance patterns of group B streptococci in late third-trimester rectovaginal cultures. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1125-6.
- Belmar J C, Abarzúa C F, Becker V J, Guzmán D AM, García C P, Oyarzún E. Estudio de sensibilidad antimicrobiana de 183 cepas de *Streptococcus agalactiae* aisladas en región vagino-perineal de embarazadas en el tercer trimestre. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2002;67(2):106-9.
- Benchetrit LC, Fracalanza SE, Peregrino H, Camelo A, Sánchez LA. Carriage of *Streptococcus agalactiae* in women and neonates and distribution of serological types: a study in Brazil. *J Clin Microbiol* 1982;15:787-90.

- Bergeron MG, Ke D, Menard C, Picard F, Gagnon M, Bernier M, Roy PH, Marcoux S, Fraser WD. Rapid detection of group B streptococci in pregnant women at delivery. *N Engl J Med* 2009;343(3):175-9.
- Berthier A, Senthiles L, Hamou L, Renoult-Litzler D, Marret S, Marpeau L. Antibiotics at term. Questions about five allergic accidents. *Gynécologie, Obstétrique & Fertilité* 2007;35:464–72.
- Bisharat N, Crook D, Leigh J, Harding R, Ward PN, Coffey TJ. Hiperinvasive neonatal group B streptococcus has arisen from a bovine ancestor. *J Clin Microbiol* 2004;42(5):2161-7.
- Bosch J, Martín R, Jiménez M. Estudio comparativo de tres medios de cultivos para detectar colonización por estreptococo del grupo B en la mujer embarazada. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003;21:346-9.
- Boyer KM, Gadzala CA, Kelly PD, Burd LI, Gotoff SP. Selective intrapartum chemoprophylaxis of neonatal group B streptococcal early-onset disease. Predictive value of prenatal cultures. *J Infect Dis* 1983;148:802-9.
- Boyer KM, Gotoff SP. Prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease with selective intrapartum chemoprophylaxis. *N Engl. J Med* 1986;314:1665-9.
- Block T, Munson E, Culver A, Vaughan K, Hryciuk J. Comparison of Carrot broth and selective Todd-Hewitt broth enhanced PCR protocols or real-time detection of *Streptococcus agalactiae* in prenatal vaginal/anorrectal specimens. *J Clin Microbiol* 2008;46:3615-20.
- Bromberger P, Lawrence JM, Braun D, Saunders B, Contreras R, Petitti DB. The influence of intrapartum antibiotics on the clinical spectrum of early-onset group B streptococcal infection in term infants. *Pediatrics* 2000;106:244-50.
- Campodónico L, Doren A, Cruz M, Abarzúa F. Profilaxis de sepsis neonatal precoz por *streptococcus agalactiae* (grupo b) basada en vacunas: revisión de la literatura. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2008;73(6):411–8.
- Carvalho MG, Facklam R, Jackson D, Beall B, McGee L. Evaluation of three commercial broth media for pigment detection and identification of a group B streptococcus (*Streptococcus agalactiae*). *J Clin Microbiol* 2009;47:4161–3.

- Castor ML, Whitney C, Como-Sabetti K, Facklam RR, Ferrieri P, Bartkus JM. Antibiotic resistance patterns in invasive group B streptococcal isolates. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2008;49:1234-8.
- Castrodale L, Gessner B, Hammitt L, Chimonas MA, Hennessy T. Invasive Early-Onset Neonatal Group B Streptococcal Cases – Alaska, 2000–2004. *Matern Child Health J* 2007;11:91–5.
- CDC. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: a public health perspective. *MMWR* 1996;45(7):1-24.
- CDC. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC. *MMWR* 2002;51(11):1-22.
- CDC. Perinatal Group B Streptococcal Disease After Universal Screening Recommendations United States, 2003-2005. *MMWR* 2007;56(28):701-5.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. CLSI document M-100 S-22. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2012.
- Coronell W, Pérez C, Guerrero C, Bustamante H. Sepsis neonatal. *Rev Enferm Infecc Ped* 2009;90:57-68.
- Cortés H. Prevención de la infección neonatal por estreptococo del grupo B, ¿Es necesaria en nuestro medio? *Rev Col Obs Gin* 2005;56:231-8.
- Costa AL, Lamy F, Chein MB, Brito LM, Lamy ZC, Andrade KL. Prevalence of colonization by group B Streptococcus in pregnant women from a public maternity of Northwest region of Brazil. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2008;30:274–80.
- Croak A, Abate G, Goodrum K, Modrzakowski M. Predominance of serotype V and frequency of erythromycin resistance in *Streptococcus agalactiae* in Ohio. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:1148-50.
- Cruz M, Doren A, Tapia JL, Abarzúa F. Sepsis neonatal por *Streptococcus* Grupo B. *Rev Chil Ped* 2008;79(5):462-470.
- De la Rosa M, Pérez M, Carazo C, Pareja L, Peis JI, Hernández F. New Granada medium for detection and identification of group B streptococci. *J Clin Microbiol* 1992;30(4):1019-21.

- 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;37:142-4.
- Díaz M, Guerra DM, Vega ME, Martínez A, Pérez J, Fernández MT. Infección por estreptococo del grupo B en niños después del período neonatal. Rev Cubana Pediatr 2006;78(4):153-67.
- Diaz TM, Nieves BM. Comparison between culture media and procedures to detect *Streptococcus agalactiae* in pregnant women. Rev Chil Infectol 2008; 25(2):108-13.
- Donati L, Di Vico A, Nucci M, Quagliozzi L, Spagnuolo T, Labianca A. Vaginal microbial flora and outcome of pregnancy. Arch Gynecol Obstet 2010;281:589–600.
- Duque CM, Gómez B, Uribe O, Gutiérrez M, Ruiz E, Leudo GA, Montiel SS. Comparación de métodos para la recuperación y determinación de la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres gestantes de Medellín. Colombia Med 2010;54:125-134.
- Edwards M, Baker C. *Streptococcus agalactiae*. En: Mandell G, Bennett J, Dolin R, editores. Enfermedades Infecciosas, Principios y Práctica. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana 2004;42:2615-28.
- El Aila NA, Tency I, Claeys G, Saerens B, Verhelst R, De Backer E, Temmerman M, Vaneechoutte M. Genotyping of *Streptococcus agalactiae* (group B streptococci) isolated from vaginal and rectal swabs of women at 35-37 weeks of pregnancy. BMC Infect Dis 2009;9(1):153.
- Epalza C, Goetghebuer T, Hainaut M, Prayez F, Barlow P, Marchant A, Levy J. Infecciones invasivas por Estreptococo grupo B en niños expuestos al VIH. [Pediatrics 2010;126:631-8.](#)
- Facklam R. What happened to the streptococci? Overview of taxonomic and nomenclature changes. Clin Microbiol Rev 2002;15:613.
- Faisal H. El estreptococo beta hemolítico del grupo B. Colonización de la vagina y su relación con la sepsis del recién nacido. Rev Cubana Med Milit 1988; 30(2):23-69.

- Figueroa JR, Ortiz FJ, Beltrán M, Villeda G, Sosa IE. Identificación de la susceptibilidad antimicrobiana de *Streptococcus* del Grupo B aislados de mujeres embarazadas mexicanas. *Enferm Infecc y Microb* 2006;56:136-9.
- Fiore T, Pearlman MD, Chapman RL, Bhatt-Mehta V, Faix RG. Maternal and transplacental pharmacokinetics of cefazolin. *Obstet Gynecol* 2001;98:1075-9.
- Fry R. Fatal Infections by haemolytic *Streptococcus* group B. *Lancet* 1938;1:99-201.
- García SD, Eliseth MC, Lazzo MJ, Copolillo E, Barata AD, De Torres R, Vay CA, Famiglietti AM. Portación de estreptococos grupo B en mujeres embarazadas. *Rev Argent Microbiol* 2003;35:183-7.
- Garland SM, Cottrill E, Markowski L, Pearce C, Clifford V, Kelly N. Australasian Group for Antimicrobial Resistance-GBS resistance Group. Antimicrobial resistance in group B streptococcus: the Australian experience. *J Med Microbiol* 2011;60(2):230-5.
- Gibbs R, Schrag S, Schuchat A. Perinatal infections due to group B streptococci. *Obstet Gynecol* 2004;104:1062-76.
- González JJ, Andreu A. Susceptibility of vertically transmitted group B streptococci to antimicrobial agents. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004;22:286-91.
- Gupta C, Briski LE. Comparison of Two Culture Media and Three Sampling Techniques for Sensitive and Rapid Screening of Vaginal Colonization by Group B *Streptococcus* in Pregnant Women. *J Clin Microbiol* 2004;42(9):3975-7.
- Gygax E, Schuyler A, Kimmel E, Trama P, Mordechai E, Adelson E. Erythromycin and clindamycin resistance in group B streptococcal clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:1875-7.
- Hansen SM, Uldbjerg N, Kilian M, Sorensen U. Dynamics of *Streptococcus agalactiae* colonization in women during and after pregnancy and in their infants. *J Clin Microbiol* 2004;42(1):83-9.
- Hensler M, Quach D, Hsieh CJ, Doran KS, Nizet V. CAMP factor is not essential for systemic virulence of group B *Streptococcus*. *Microb Pathog* 2008;44(1):84-8.

- Huiza L, Pacora P, Santivañez A, Castro G, Ayala M. La enfermedad perinatal y la prematuridad pertenecen a un síndrome clínico multifactorial: Participación de la herencia de enfermedad vascular, la flora microbiana vaginal y el estado nutricional. *Anales de la Facultad de Medicina* 2003;64(3):167-179.
- Jao MS, Cheng PJ, Shaw SW, Soong YK. Anaphylaxis to cefazolin during labor secondary to prophylaxis for group B *Streptococcus*: a case report. *Journal of Reproductive Medicine* 2006;51(8):655–8.
- Jauréguy F, Carton M, Panel P, Foucaud P, Butel MJ, Doucet-Populaire F. Effects of Intrapartum Penicillin Prophylaxis on Intestinal Bacterial Colonization in Infants. *J Clin Microbiol* 2004;42(11):5184-8.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Microbiología Médica*. México: Editorial Ciencias Médicas 2006;15:213-24.
- Joachim A, Matee MI, Massawe FA, Lyamuya EF. Maternal and neonatal colonization of group B streptococcus at Muhimbili National Hospital in Dar es Salaam, Tanzania: prevalence, risk factors and antimicrobial resistance. *BMC Public Health* 2009;9:437-42.
- Kraśnianin E, Skret-Magierło J, Witalis J, Barnaś E, Kluz T, Koziel A. The incidence of Streptococcus Group B in 100 parturient women and the transmission of pathogens to the newborn. *Ginekol Pol* 2009;80:285–9.
- Koneman EW, Allen SD, Dowel VR, Janda WM, Sommers HM, Winn WC. Cocos Gram positivos. En: *Diagnóstico Microbiológico*. 3ra edición. Editorial Médica Panamericana 1998;412–449.
- Koskenvuo MM, Irjala K, Kinnala A, Ruuskanen O, Kero P: Value of monitoring serum procalcitonin in neonates at risk of infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22:377-8.
- Kovavisarath E, Ying WS, Kanjanahareutai S. Risk factors related to group B streptococcal colonization in pregnant women in labor. *J Med Assoc Thai* 2007;90:1287-92.
- Lancefield RC. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J Exp Med* 1933;57:571–95.

- Lancefield R, Hare R. The serological differentiation of pathogenic and non-pathogenic strains of hemolytic streptococci from parturient women. J Exp Med 1935;61:335-49.
- Larsen J, Sever J. Group B Streptococcus and Pregnancy: a Review. Am J Obstet Gynecol 2008;198(4):440-8.
- Manning SD, Foxman B, Pierson CL, Tallman P, Baker CJ, Pearlman MD. Correlates of antibiotic-resistant group B streptococcus isolated from pregnant women. Obstet Gynecol 2003;101:74-9.
- Matheus AK. Frecuencia de Estreptococo Beta hemolítico del Grupo B en sepsis neonatal (Tesis). Rev Arg Microb 2009;45:4-56.
- McKenna DS, Matsonand S, Northern I. Maternal group B streptococcal (GBS) genital tract colonization at term in women who have asymptomatic GBS bacteriuria. Infect Dis Obstet Gynecol 2003;11:203-207.
- Montibello SE, Guelfand LI, Machaín MG, Carrión NA, Ferreira MD, Pidoneç JC, Ceregido ME, Kaufman SC, Soloaga RE. Optimización de metodologías de cribaje para la búsqueda de *Streptococcus agalactiae* en embarazadas. Rev Arg Microb 2011;43:4-8.
- Morganm F, Cinco A, Douriet FA, Báez J, Muñoz J, Osuna I. Factores sociodemográficos y obstétricos asociados con nacimiento pretérmino. Ginecol Obstet Mex 2010;78(2):103-109.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ta ed. Madrid: Elsevier 2006.
- Namavar B, Poorarian S, Poorbarfehee S. The prevalence and adverse effects of group B streptococcal colonization during pregnancy. Arch Iran Med 2008;11:654-7.
- Natarajan G, Jhonson Y, Zhang F, Chen KM, Worsha MJ: Real time polymerase chain reaction for the rapid detection of group B streptococcal colonization in neonates. Pediatrics 2006;118(1):14-22.
- Nodarse R, Fuerte ME. Aislamiento de Estreptococo grupo B en muestras extragenitales en adultos: una localización emergente. Rev Cubana Med Milit 2007;36(2):23-9.

- Orsello C, Dommermuth R. Maximizing neonatal early onset group B streptococcal disease prevention with universal culture screening at 35 to 37 weeks gestation: a comparison of GBS detection rates between LIM broth and CNA culture media. *Fam Med* 2003;35:411-3.
- Oyarzún E. Rotura prematura de membranas. En Oyarzún E, Badía AJ. *Alto Riesgo Obstétrico*. Ediciones Universitarias PUC 1997;6:97-112.
- Paoletti LC, Madoff LC. Vaccines to prevent neonatal GBS infection. *Semin Neonatol* 2002;7:315-23.
- Phares CR, Lynfield R, Farley M, Mhole J, Harrison L, Petit S. Epidemiology of Invasive Group B Streptococcal Disease in the United States, 1999-2005. *JAMA* 2008;299(17):2056-65.
- Picard FJ, Bergeron MG. Laboratory detection of group B *Streptococcus* for prevention of perinatal disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23:665–671.
- Poyart C, Réglier-Poupet H, Tazi A, Billoet A, Dmytruk N, Bidet P. Invasive group B streptococcal infections in infants, France. *Emerg Infect Dis* 2008;14(10):1647-9.
- Puopolo KM, Madoff LC, Eichenwald EC. Early-Onset Group B Streptococcal Disease in the Era of Maternal Screening. *Pediatrics* 2005;115(5):1240-6.
- Quentin R, Morange V, Watt S. Prise en charge de *Streptococcus agalactiae* en obstétrique. *J Gynécol Obstet Biolog Reprod* 2002;31(6):65-73.
- Rausch AV, Gross A, Droz S, Bodmer T, Surbek DV. Group B *Streptococcus* colonization in pregnancy: prevalence and prevention strategies of neonatal sepsis. *J Perinat Med* 2009;37:124–9.
- Regnath T, Ignatius R. High stability of a New Granada medium agar that allows rapid and accurate detection of colonization with group B streptococci in pregnant women. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28(12):1487-1489.
- Rivas C, Tallact I, Etchenique A. Colonización vaginorrectal por *Streptococcus* del grupo B en mujeres embarazadas, entre las 35 a 37 semanas de gestación. *Rev Med Urug* 2006;22:191-6.
- Rodríguez AJ, CN Rodríguez, Garcia A, Pastran B, Jiménez I, Meijomil P. Antimicrobial Activity of Certain Drugs against *Streptococcus agalactiae* Strains in

- a General Hospital of Caracas, Venezuela 1997-2003. *Acta Científica Estudiantil* 2007;5(3):115-8.
- Rojas N, Chaves E, García F. *Streptococcus y Enterococcus*. En: *Bacteriología Diagnóstica* 2006;10:78-85.
 - Rojas JL, Pérez MP, Otálora EP. Prevalencia del *Streptococcus b* en el tracto genital inferior en embarazadas entre 35 y 37 semanas. *Repert Med Cir* 2010;19(2):141-6.
 - Saltigeral P, Valenzuela A, Placencia S, Martínez D. Agentes causales de sepsis neonatal temprana y tardía: una revisión de 10 años en el “Hospital Infantil Privado”. *Rev Enferm Infecc Ped* 2007;20(80):99-105.
 - Sandoval J, Fica A, Caballero R. Tratamiento y profilaxis antibiótica de patologías comunes en ginecología-obstetricia. *Rev Hosp Clin Univ Chile* 2008;19:245-69.
 - Shabayek SA, Abdalla SM, Abouzeid AM. Vaginal carriage and antibiotic susceptibility profilactic of group B streptococcus during late pregnancy in Ismailia, Egypt. *J Infect Public Health* 2009;2(2):86-90.
 - Schrag SJ, Zell ER, Lynfield R, Roome A, Arnold KE, Craig AS. For the Active Bacterial Core Surveillance Team. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. *N Engl J Med* 2002;347:233-9.
 - Schrag S, Schuchat A. Prevention of neonatal sepsis. *Clin Perinatol* 2005;32: 601-15.
 - Simoes JA, Aroutcheva AA, Heimler I, Faro S. Antibiotic resistance patterns of group B streptococcal clinical isolates. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2004;12:1-8.
 - Solensky R. Hypersensitivity reactions to beta-lactam antibiotics. *Clin Rev Allergy Immunol* 2003;24:201-20.
 - Slotved HC, Kong F, Lambertsen L, Sauer S, Gilbert GL. Serotype IX, a proposed new *Streptococcus agalactiae* serotype. *J Clin Microbio* 2007;45:2929–36.
 - Tamariz JH, Obregon M, Jara JC, Diaz J, Jefferson L, Guerra H. Colonización vaginal y anorectal por *Streptococcus agalactiae* en gestantes de los Hospitales Nacionales Cayetano Heredia y Arzobispo Loayza. *Rev Med Hered* 2004;15(3): 135-40.

- Tapia JL, Reichhard C, Saldías MI, Abarzúa F, Pérez ME, González A, Gederlini A. Sepsis neonatal en la era de profilaxis antimicrobiana prenatal. *Rev Chil Infect* 2007;24(2):111-116.
- Teese N, Henessey D, Pearce Ch, Kelly N, Garland S. Screening protocols for group B streptococcus: are transport media appropriate? *Infect Dis Obstet Gynecol* 2003;11:199–202.
- Trijbels M, De Jonge G, Pasker JP, Gerards L, Adriaanse A, Lingen R. Epidemiology of neonatal group B streptococcal disease in the Netherlands before and after introduction of guidelines for prevention. *Arch Dis Child* 2007;92:271-6.
- Turrentine MA, Ramirez MM. Recurrence of group B streptococci colonization in subsequent pregnancy. *Obstet Gynecol* 2008;112:1183.
- Valdés E, Pastene C, Grau M, Catalán J, Candia P, Juarez G, Caballero R. Prevalencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* (grupo B) en el tercer trimestre del embarazo en medio de cultivo no selectivo. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2003;68(4):305-08.
- Wu M, Janapatla P, Ho R, Hung H, Wu W, Yan J. Emergence of fluoroquinolone resistance in group B streptococcal isolates in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:1888-90.
- Zuazo JL. Estreptococos. En Llop A, Valdés MM, Zuazo JL. *Microbiología y Parasitología Médicas*. La Habana: Editorial Ciencias Médicas 2001;19:165–78.

ANEXOS

ANEXO #1. Crecimiento de *S. agalactiae* en medio Granada.

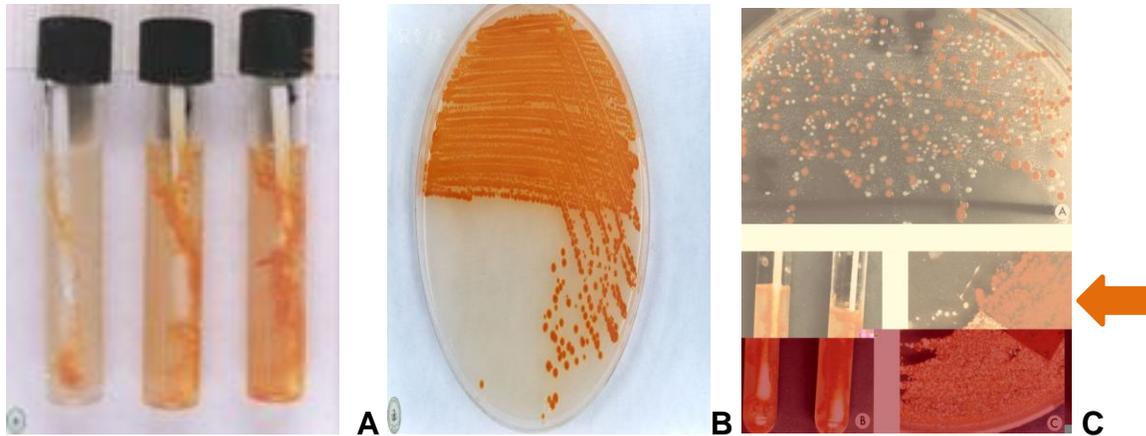


Figura #1. Crecimiento de *S. agalactiae* en medio Granada. **A.** En tubo. **B.** En placa. **C.** En placa (condiciones de aerobiosis con un cubreobjetos encima del inóculo).

ANEXO #2. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Investigación para determinar colonización vaginal y rectal por *Streptococcus* β -hemolítico grupo B en embarazadas entre 35 y 37 semanas de gestación.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dra. Adilys Alvarez Cruz

Yo,.....en plenitud de mis facultades mentales, estoy de acuerdo que, se me tomen muestras vaginales y ano rectales para el diagnóstico microbiológico del *Streptococcus* beta hemolítico del grupo B, dado que:

a.- La toma de la muestra la realizará un profesional, que no me causará daños y que este es un acto necesario para determinar si soy portadora del *Streptococcus* beta hemolítico del grupo B.

b.- Conozco que el posible beneficio que tendré de este estudio es determinar si soy portadora de la bacteria y si fuera necesario, recibir tratamiento antibiótico durante el parto para evitar complicaciones y secuelas graves a mi futuro hijo.

c.- En cualquier momento me podré retirar del estudio, sin dar razones y sin que ello modifique la calidad de la atención médica que recibiré.

d.- Mi identidad no puede ser revelada y los datos clínicos y microbiológicos serán confidenciales, a menos que sean solicitados por ley. Los resultados de este estudio pueden ser publicados.

e.- Este consentimiento ha sido firmado por mí voluntariamente sin que haya sido forzada u obligada, luego de haber recibido la adecuada información.

f.- Cualquier consulta que requiera hacer en relación a mi participación en el estudio, deberá ser formulada al médico tratante _____

Fecha y lugar de aceptación: _____

Nombre y firma del Médico

Nombre y firma de la paciente

Acápite 3.5.1

ANEXO #3. PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO GRANADA.

1. Ingredientes necesarios para 1000 ml de medio

Proteosa peptona No.3 (Difco)-----	25g
Almidón-----	20g
MOPS sal hemisódica (M9027 Sigma)-----	11g
Na ₂ PO ₄ -----	8,5g
Glucosa-----	2,5g
Piruvato sódico-----	1g
Metronidazol (Sigma)-----	1g
MgSO ₄ -----	20mg
Methotrexate sal sódica (Lederle)-----	6mg
Sulfato de colistina-----	5mg
Cristal violeta-----	0,2mg
Suero de caballo-----	50ml
Agar-----	3g
Agua destilada-----	1000ml
PH: 7,45 +/- 0,1	

2. Preparación del suplemento x 10 (para 100ml)

Glucosa-----	25g
Piruvato sódico-----	10g
MgSO ₄ -----	2g
Methotrexate sal sódica-----	60mg
Cristal violeta-----	2mg
Sulfato de colistina-----	50mg

Metronidazol----- 100mg

Disolver calentando suavemente (50-60°C) .Esterilizar por filtración. Despreciar los primeros mililitros hasta que el filtrado sea violeta, pues al principio, hasta que se satura la membrana de filtración, puede retener el cristal violeta.

Conservar en tubos de 100x13mm previamente estériles, hasta seis meses.

3. Preparación del medio (1000 ml)

Agar----- 3g

Proteosa peptona N°3 Difco----- 25g

Almidón----- 20g

MOPS hemisódica (SIGMA M9027)----- 11g

Na₂HPO₄----- 8,5g

-Disolver en 940ml de agua destilada, calentando suavemente con agitación.

-Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

-Enfriar 50-55°C.

-Añadir 10 ml de suplemento estéril.

-Añadir 50ml de suero agitando.

- Dispensar 4 ml en cada uno de los tubos (100x13mm) previamente esterilizados.

-Conservar 4-8°C.

En unos días el medio se vuelve de translúcido a blanquecino, pero no afecta su funcionamiento. Caducidad: 2 meses en frigorífico.