

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**Detección de *Streptococcus agalactiae* en Mujeres Embarazadas que Acuden a la Consulta Prenatal
del Hospital General San Juan de Dios.**

CARMEN ESTHELA PEREIRA QUIÑONEZ

QUÍMICA BIOLÓGICA

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2003

INDICE

Pág

I.	RESUMEN.....	1
II.	INTRODUCCIÓN.....	3
III.	ANTECEDENTES.....	5
A.	<i>Streptococcus</i> del grupo B o <i>Streptococcus agalactiae</i>	5
	1. Historia.....	5
	2. Generalidades.....	6
	3. Epidemiología y transmisión.....	7
	a. Transmisión de <i>Streptococcus agalactiae</i> en neonatos.....	9
	4. Incidencia de infecciones en neonatos y embarazadas.....	9
	5. Patogénesis.....	11
	6. Manifestaciones clínicas.....	12
	a. Infecciones neonatales tempranas.....	12
	b. Infecciones neonatales tardías.....	13
	7. Diagnóstico de laboratorio.....	14
	a. Aislamiento.....	14
	b. Identificación.....	15
	8. Tratamiento.....	16
	9. Prevención.....	18
IV.	JUSTIFICACIONES.....	21
V.	OBJETIVOS.....	22
VI.	HIPÓTESIS.....	23
VII.	MATERIALES Y METODOS.....	24
	A. Universo de trabajo.....	24
	1. Población.....	24
	2. Muestra.....	24
	B. Recursos.....	25
	1. Recursos humanos.....	25
	2. Recursos institucionales.....	25

	3.	Recursos materiales.....	25
		a. Equipo.....	25
		b. Reactivos.....	26
		c. Cepas.....	26
		d. Instrumentos y otros.....	26
	C.	Procedimiento.....	27
	D.	Análisis y manejo de datos.....	31
VIII.		RESULTADOS.....	32
IX.		DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	39
X.		CONCLUSIONES.....	43
XI.		RECOMENDACIONES.....	44
XII.		REFERENCIAS.....	45
XIII.		ANEXOS.....	51

I. RESUMEN

La importancia del control prenatal y el alto riesgo que representa para el recién nacido la colonización vaginal materna por *Streptococcus agalactiae* estriba en la principal causa de infección neonatal. La mayoría de estas infecciones se producen por la transmisión de este microorganismo durante el parto a partir del tracto genital materno colonizado, o en el útero, por vía ascendente, siendo la tasa de transmisión vertical del 50% (26).

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas que acudieron a la consulta prenatal del Hospital General San Juan de Dios.

Se estudiaron un total de 500 mujeres embarazadas durante septiembre 2002 a febrero de 2003. A quienes se tomaron muestras vaginales y anorrectales. Estas muestras fueron colocados en un medio de caldo selectivo con dos antibióticos, para un posterior cultivo en placas de agar sangre de carnero al 5%. La identificación de *Streptococcus agalactiae* se efectuó mediante las pruebas de susceptibilidad a los discos de bacitracina y trimethoprim sulfamethoxazole, hipurato de sodio al 1% y CAMP, así como las pruebas de susceptibilidad antibiótica por la técnica de Bauer-Kirby.

Los datos obtenidos fueron procesados mediante el análisis estadístico Epi- Info 6 de la Organización Mundial de la Salud, a un nivel de significancia del 0.05.

Esta muestra de 500 mujeres embarazadas consistió en un 55% (275) de jóvenes menores de 24 años, de ellas el 98% (488) vivían en la capital y municipios, el resto en los departamentos. La etnia que predominó fue la ladina con un 83% (414) y el 84% (419) eran amas de casa.

En 72 mujeres se observó colonización por *Streptococcus agalactiae* y el resto 428 no presentaron colonización a este microorganismo. De esta manera la prevalencia de mujeres colonizadas fue de 14.4%.

Con respecto a la edad, el grupo de mujeres mayores de 24 años fue el que mostró mayor prevalencia de colonización con 15.6% (35). En cuanto al estado civil, el mayor porcentaje de colonización se presentó en las mujeres solteras y unidas con 15% (51), mientras que en las casadas 13.2% (21).

La etnia indígena presentó un 20% (17) para cultivos positivos en relación a la ladina 13.3% (55) respectivamente, la ocupación que presentó mayor tasa de colonización fueron las amas de casa 15% (15) en comparación a las mujeres dedicadas a actividades diferentes al hogar 11% (9) ($p>0.05$).

Se pudo observar a través de este estudio que la estimación de la tasa de colonización por *Streptococcus agalactiae* puede ser variable y atribuida a ciertos factores como el tipo de población atendida, las técnicas de aislamiento utilizadas, el número y sitio anatómicos de muestras obtenidas y el tiempo de gestación.

La identificación de grupos de embarazadas con colonización por *Streptococcus agalactiae* aumenta la posibilidad de una mejor vigilancia perinatal y por lo tanto de prevenir, diagnosticar y tratar oportunamente este tipo de infección.

II. INTRODUCCIÓN

La importancia del control prenatal en mujeres embarazadas tiene como objetivo prevenir complicaciones tanto para la madre como en el recién nacido.

La infección perinatal es causa de elevadas muertes en neonatos encontrándose diferentes agentes involucrados tanto virales como bacterianos. Esto lleva a la necesidad de detectar precozmente su presencia en la madre así como en el recién nacido. Dentro de las infecciones bacterianas las de mayor relevancia son las producidas por *Streptococcus agalactiae*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis*. La colonización de la vagina de embarazadas, principalmente en el tercer trimestre plantea riesgos de transmisión al neonato en el pasaje por el canal de parto, generando desde una simple colonización hasta meningitis y sepsis neonatal (1-3).

La colonización por estreptococos del grupo B durante el embarazo puede ser constante o intermitente y oscila entre el 5% y 35% (4). La tasa de colonización vaginal en mujeres gestantes de Estados Unidos varía entre 20 y 30%, y en algunos países Europeos, como Italia, España e Irlanda, la colonización es de 21, 11 y 26%, respectivamente; en Venezuela de 32%, Argentina de 10%, México de 10.3%, Gambia de 22% mientras que en algunos países asiáticos como Japón, es de 22% (5-10).

El primer estudio epidemiológico realizado en Guatemala reveló una prevalencia de 2.8% para *Streptococcus agalactiae* (11).

En los países en desarrollo, 30 a 40% de las muertes neonatales tienen relación con las infecciones. De ellas, las asociadas a estreptococos del grupo B de Lancefield representan un alto porcentaje como la causa “número uno” de infecciones en los recién nacidos. Además estas infecciones se reconocen como la causa mas común de sepsis, neumonía y meningitis en el recién nacido (12).

En algunos países Europeos y en Estados Unidos de América la frecuencia de enfermedad y muerte por estreptococos del grupo B, *Streptococcus agalactiae* en neonatos varía entre 1.3 y 5.4 por 1000 recién nacidos vivos. En Argentina la incidencia es de 0.6 a 1 por 1000 recién nacidos vivos (4,6).

En los últimos años se ha preconizado la necesidad de su detección en el tracto vaginal de la mujer gestante con el fin de administrar profilaxis antibiótica intra parto a las portadoras de

Streptococcus agalactiae para prevenir la infección del recién nacido, especialmente cuando existen factores de riesgo (13).

En Guatemala poco se conoce sobre la prevalencia de *Streptococcus* del grupo B, *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas y los riesgos en recién nacidos, tomando en cuenta las graves consecuencias que puede ocasionar la transmisión del *Streptococcus agalactiae* al neonato, en el presente estudio se determinó en muestras de hisopados vaginales y anorrectales de mujeres embarazadas que acudieron a la consulta prenatal del Hospital General San Juan de Dios la incidencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* esto se llevó a cabo en un período de seis meses.

En este estudio se utilizó un caldo selectivo (Caldo de Todd-Hewitt con sangre de carnero al 5% y una solución antibiótica con ácido nalidixico y sulfato de gentamicina), con posterior cultivo en placas de agar sangre de carnero al 5% e identificación de *Streptococcus agalactiae*, a partir de las colonias beta hemolíticas aisladas, mediante las pruebas de susceptibilidad a los discos de bacitracina y trimethoprim sulfamethoxazole, hipurato de sodio al 1% y CAMP, así como las pruebas de susceptibilidad antibiótica por la técnica de Bauer-Kirby para cada uno de los cultivos identificados para *Streptococcus agalactiae*.

III. ANTECEDENTES

A. *Streptococcus* del grupo B o *Streptococcus agalactiae*

I. Historia

El estudio de los estreptococos en el laboratorio fue posibilitado por la introducción de medios de cultivo sólidos hacia fines del siglo XIX. A principios del siglo XX, Hugo Schottmuller demostró las reacciones hemolíticas producidas por los estreptococos en agar sangre (14). Algunos años más tarde J. H. Brown, trabajando en el Instituto Rockefeller, fue el primero en describir las diferentes reacciones hemolíticas alfa, beta y gamma de los estreptococos (14).

A principios de la década de 1930, Rebecca Lancefield identificó 5 distintos grupos antigénicos de estreptococos que denominó A, B, C, D y E, en base a diferencias serológicas en los polisacáridos C de la pared celular, desde entonces los continuos estudios e investigaciones han ampliado a 18 el número de grupos serológicos reconocidos, clasificados de A – H y de K – T (14,15).

El *Streptococcus* beta hemolítico del grupo B de Lancefield o *Streptococcus agalactiae* fue reconocido en 1938 como una causa de infección humana cuando Fry describió el caso de tres pacientes con sepsis puerperal fatal (15). Aunque se informaron de casos esporádicos durante las próximas tres décadas, estos microorganismos permanecieron desconocidos hasta finales de 1960 cuando se reconoció en los Estados Unidos y Europa y fue asociado frecuentemente con infecciones en la madre y recién nacido (15).

Durante 1970 hubo un aumento en la incidencia de septicemia y meningitis en neonatos causada por *Streptococcus* del grupo B. La incidencia de infección ha permanecido inalterada durante los últimos 20 años, con tasas reportadas de 0.2 a 5.4 por 1000 nacimientos, estas infecciones no solo se manifestaron en neonatos sino también fueron acompañadas por un número creciente en mujeres embarazadas y no embarazadas. Las infecciones por estreptococos del grupo B en mujeres embarazadas se manifestaban por infecciones uterinas localizadas o corioamnionitis, a menudo con bacteremia y tenían un buen resultado con terapia (16,17).

Se ha estimado que la incidencia de infecciones por estreptococos del grupo B durante los primeros siete días de vida es de 1.1 a 3.7 casos por 1000 recién nacidos (16).

Durante casi 30 años se ha reconocido mundialmente a *Streptococcus agalactiae* o del grupo B como un importante patógeno causante de infección perinatal (10). La severidad y magnitud de infecciones atribuidas a este microorganismo han estimulado un intenso esfuerzo de investigaciones en los últimos años, con la esperanza de comprender mejor la patogénesis y epidemiología de estas infecciones lo que podría producir desarrollo de métodos para su efectivo control y prevención (15,16).

Existen ocho serotipos designados de I a VIII; de los cuales los mas frecuentes de enfermedad humana son los serotipos II y III, el serotipo III predomina en las infecciones neonatales (4, 5) (anexo I).

Estudios realizados en un hospital de Corea reportaron de 64 aislados de estreptococos del grupo B de 459 mujeres embarazadas, los serotipos Ib (48.3%), Ia (24.1%) y III (20.7%) (18).

En 1990 se encontró que tres nuevos serotipos capsulares IV, V y VI, estaban asociados con enfermedades humanas y caracterizados inmunoquímica y estructuralmente (17).

Actualmente este número de serotipos puede incrementarse debido a un nuevo serotipo descubierto en Japón, conocido previamente como JM9 el cual está siendo caracterizado y los serotipos provisionales VII y IX que están siendo considerados (19).

2. Generalidades

Los estreptococos pertenecen a la familia *Streptococcaceae*, género *Streptococcus*. Son células esféricas u ovoides que forman cadenas largas o cortas o pares. No son móviles ni esporulados (20,21).

Streptococcus agalactiae es la especie designada por Lancefield como *Streptococcus* del grupo B. Son cocos Gram positivo, facultativos anaerobios que crecen rápidamente en agar sangre de carnero al 5% tienen una morfología colonial típica, las colonias son redondas, lisas, brillantes, blanco-grisáceas de 0.5 a 1.0 mm de diámetro, con una zona angosta de beta hemólisis (20-22).

Las pruebas presuntivas para su identificación son la susceptibilidad a los discos de bacitracina y trimethoprim sulfamethoxazole (92 a 98% de las cepas son resistentes), hidrólisis del hipurato de sodio (99% de las cepas son positivo), hidrólisis del agar bilis esculina (99 a 100% de las cepas no reaccionan), y prueba de CAMP positiva (98 a 100% de las cepas son CAMP-positiva) (14,20-22).

La identificación microbiológica definitiva requiere de métodos serológicos para detectar el antígeno del carbohidrato de su pared celular (19).

El estreptococo del grupo B se clasifica por serotipos basados cada uno en la presencia de polisacáridos capsulares de tipo específico que están constituidos por unidades repetidas de 5 a 7 monosacáridos que contienen glucosa, galactosa, glucosamina y ácido N-acetilneuroaminico (19).

Los serotipos son Ia, Ib, II, III, IV, V, VI. Un antígeno de proteína de superficie, proteína C, es común para todas las cepas Ib, un 60% para II y raramente IV, V y VI (15,23) (anexo I).

Un factor de mayor virulencia para este microorganismo son los polisacáridos capsulares (15,23).

Se ha encontrado que los serotipos V son la causa estimada de aproximadamente el 15% de enfermedad neonatal y de infección invasiva en mujeres embarazadas y adultos (15,23).

3. Epidemiología y transmisión

Históricamente, el estreptococo del grupo B era conocido como causa de mastitis bovina en lugar de infección perinatal humana (15). Cuando el microorganismo se reconoció como un patógeno humano a través de

estudios epidemiológicos en donde examinaron cepas humanas y bovinas y examinando sus propiedades fisiológicas, serológicas y marcadores los investigadores concluyeron que la transmisión de las vacas era raro (15).

Las infecciones por estreptococos del grupo B, *Streptococcus agalactiae* en pacientes sanos se encuentra limitada a los sitios de la membrana mucosa. Sitios como garganta, vagina, vulva, tracto genitourinario, ano y recto (15,20). En mujeres embarazadas el tracto urinario es un sitio importante de infección (15,20). Butter y Moor comprobaron que aproximadamente el 10% de las personas sanas son portadoras de estreptococos del grupo B, y el 9% de las parturientas y de los recién nacidos transportan el microorganismo en la garganta, vagina, pezones y el ombligo (20)

Boyer y colaboradores encontraron cultivos positivos en un 73% en mujeres colonizadas en el sitio de la vagina y un 60% de cultivos positivos para sitio del recto (24). Valores similares fueron reportados por Easmon *et al* en cultivos vaginales y rectales de mujeres embarazadas en 28 y 36 semanas de gestación (25).

Existen datos de que la detección de *Streptococcus agalactiae*, mejora cuando se toman dos muestras para cultivo (vagina y recto), que cuando solo se toma una. Recientemente Della Morte y colaboradores, en Italia, encontraron en mujeres embarazadas una frecuencia de colonización, con la toma de una muestra de 17.8%, y con dos muestras (vaginal y rectal) de 21.2% (7).

La colonización por estreptococos del grupo B durante el embarazo puede ser constante o variable y oscila entre el 5% y 35% (4). La tasa de colonización vaginal en mujeres gestantes de Estados Unidos varía entre 20 y 30%, y en algunos países Europeos, como Italia la colonización es de 21%, España de 11% e Irlanda de 26% respectivamente; en Venezuela se ha descrito hasta un 32%, en Argentina 10%, en Gambia un 22% mientras que en algunos países Asiáticos como Japón de 22% (6-10,27) (anexo 2).

Existen algunos factores que pueden afectar la estimación de la tasa de colonización por estreptococos del grupo B (26). Entre estos factores se encuentran el tipo de población atendida, las técnicas de aislamiento utilizadas, el número y sitio anatómico de muestras obtenidas, riesgos obstétricos, así como la edad gestacional (26). Otro factor importante es la concentración materna de anticuerpos séricos contra el polisacárido capsular de la cepa colonizante de estreptococos del grupo B de Lancefield (26).

En México han sido pocos los estudios sobre colonización vaginal por estreptococos del grupo B de Lancefield en mujeres. En un estudio realizado en mujeres méxicoestadounidenses, en 1978, en los Angeles, California, EUA, se encontró una tasa de 18.4%; en 1981, una investigación en México reveló una colonización de 1.6%; en otro estudio efectuado entre 1986 y 1987, en el Instituto Nacional de Perinatología de México, se notificó una colonización de 10.3% (27).

Estudios realizados en 1999 en 910 mujeres embarazadas de los Altos, Chiapas reportaron una tasa de colonización de 8.6 %, en muestras vaginal y perianal para la detección de *Streptococcus* del grupo B por cultivo e identificación de grupo y serotipo mediante aglutinación en látex (27).

Estudios realizados en un hospital de Corea para proveer datos de la colonización por *Streptococcus agalactiae* en muestras vaginales, anorrectales y uretrales en 459 mujeres embarazadas revelaron un 5.9% (27/459) y para 288 muestras tomadas de ombligo y oído en recién nacidos revelaron un 0.7% (2/288). Para este estudio utilizaron el caldo selectivo de Todd-Hewitt y el medio Granada (28).

El predominio de infección por estreptococos del grupo B en niños parece diferir de los adultos (28). En un estudio de 100 niñas entre 2 y 16 años edad, Hammerschlag *et al*, aislaron estreptococos del grupo B de los sitios de vagina, recto y faringe en un 20%. Este dato y otros sugieren que el sitio mas colonizado por este microorganismo era el tracto gastrointestinal bajo, en ambos sexos (28).

Otros factores de colonización por *Streptococcus agalactiae* en mujeres no embarazadas es el uso de contraceptivos orales, número de parejas. Infecciones asintomáticas también ocurren en los genitales y en el tracto gastrointestinal bajo de mujeres y hombres (15).

a. Transmisión de *Streptococcus agalactiae* en neonatos

La exposición del neonato a este microorganismo ocurre por la ruta ascendente en útero a través de las membranas rotas o por la contaminación durante el pasaje a través del canal del nacimiento. Puede estar relacionada con septicemia materna y septicemia neonatal, neumonía y meningitis (15).

Algunas investigaciones han reportado la transmisión vertical de 29 a 85% entre los neonatos nacidos de mujeres, a las que se les aisló este microorganismo de vagina, ano y recto (15). La transmisión horizontal por exposición nosocomial y de ambiente es otra fuente de infección pero menos frecuente (15).

4. Incidencia de infecciones en neonatos y embarazadas

La incidencia de *Streptococcus agalactiae* como un patógeno común para el período perinatal incluyen tanto a la madre como al neonato; se ha aislado a este microorganismo en un 20% de mujeres con endometritis del post parto, aborto séptico, síndrome de shock séptico, corioamnionitis, infección de la herida quirúrgica tras cesárea e infecciones del tracto urinario, en un estimado de 45000 casos anuales en los Estados Unidos (15). Se considera como la segunda causa común de bacteremia después de cesáreas, considerándose un 20 a 25% de casos, en un estimado de 3000 casos anuales (15).

En algunos países Europeos y Estados Unidos de América la frecuencia de enfermedad y muerte por *Streptococcus agalactiae* en neonatos varía entre 1.3 y 5.4 por 1000 recién nacidos vivos. En Argentina la incidencia es de 0.6 a 1 por 1000 recién nacidos vivos (4, 26).

Estudios realizados en el Hospital Centro Médico en Argentina, en 1995, evaluaron la utilidad del cultivo vaginal, realizado a las pacientes embarazadas entre las 30 y 34 semanas, para la detección de *Streptococcus agalactiae* y se encontró 19 cultivos positivos que representa una incidencia de 4.6% (10).

Estudios realizados en Guatemala por Cano en 1977 refieren de un total de 40 pacientes con endometritis post-parto el 4.04% fue positivo para *Streptococcus* sp (beta hemolítico no grupo "A"), encontrándose una baja incidencia de este microorganismo (29).

El primer estudio epidemiológico de infección por *Streptococcus agalactiae* en una población guatemalteca fue realizado por Cáceres en 1978, los resultados bacteriológicos obtenidos de las muestras vaginales en mujeres embarazadas revelaron una baja prevalencia de 2.8% de dicho microorganismo ya que únicamente se aisló en 3 de 103 pacientes embarazadas (11).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que en todo el mundo fallecen casi 5.000,000 de recién nacidos al año y que el 98% ocurre en países en desarrollo. Las principales causas de muerte neonatal son las infecciones, asfixia y prematurez. Así mismo la OMS estima, que del total de los recién nacidos vivos, en los países en vías de desarrollo, aproximadamente el 20% evoluciona con una infección y el 1% fallecen debido a una sepsis neonatal (30).

En Estados Unidos, el índice estimado de incidencia de infección neonatal por estreptococos del grupo B es de 1.8 casos por 1000 nacimientos de niños con vida y un 10 a 20% de muerte de esos casos (12).

En los países en desarrollo, 30 a 40% de las muertes neonatales tienen relación con las infecciones mientras la incidencia de sepsis neonatal es de 5 a 8 por cada 1000 recién nacidos vivos en Centro y Sur América (30).

5. Patogénesis

La presencia de estreptococo del grupo B, *Streptococcus agalactiae*, en el tracto genital materno es el rasgo más importante que determina el riesgo de infección neonatal. La infección sintomática temprana ocurre en 1 a 2% de infantes nacidos de madres con colonización vaginal o rectal de estreptococo del grupo B. La patogénesis de infección temprana está determinada en parte por varios rasgos que influyen en el riesgo al recién nacido. Tomados juntos, la mayor carga bacteriana, la duración de exposición y la inmadurez del neonato son factores que afectan la probabilidad de infección (15,23).

Varios factores obstétricos se asocian con un mayor riesgo de infección del recién nacido, fundamentalmente: prematuridad (menor de 37 semanas), la rotura prolongada de las membranas (mayor de 18 horas), fiebre intraparto (mayor de 38°C), haber tenido un hijo anterior con infección por estreptococos del grupo B y la presencia de bacteriuria durante el embarazo causada por este microorganismo (31). También las tasas de colonización por estreptococos del grupo B son mayores en los recién nacidos de madres que presentan una alta densidad de colonización vaginal, y en los nacidos de gestantes que presentan un bajo título de anticuerpos frente al antígeno polisacárido de la cepa colonizante son especialmente susceptibles. No obstante, solo en aproximadamente la mitad de los recién nacidos que se infectan en el momento del parto se identifica algún factor de riesgo. (24)

La hospitalización prolongada requerida por infantes de bajo peso refuerza su riesgo de exposición nosocomial, probablemente por contacto con el personal (15-23). Esta infección ha sido más bien asociada con transmisión nosocomial que con complicaciones obstétricas (15,23).

La infección estreptocócica neonatal se ha clasificado en temprana y tardía de acuerdo con la edad en que se inicia (15).

En las infecciones tempranas los macrófagos y polimorfonucleares son las primeras células inmunes que interactúan con los estreptococos del grupo B. Estudios realizados demostraron que después de una fagocitosis *in vitro* la supervivencia de los macrófagos ocurría de 24 a 48 horas (32).

Estudios realizados en el centro médico de Aga Khan de Karachi, Pakistán, durante 1990-1993, evaluaron los factores de riesgo en sepsis neonatal temprana y encontraron que de un total de 38 casos fue aislado en un 13% estreptococos del grupo B, asociando los factores de riesgo materno significativos a infecciones del tracto urinario y a infección postnatal adquirida del medio ambiente (33).

En el Hospital de Kaplan, Israel durante 1989-1992, el patógeno principal aislado de pacientes con sepsis temprana fue el estreptococo del grupo B en un 42% (34).

Streptococcus agalactiae se ha aislado de otro tipo de infecciones, como etmoiditis, celulitis, conjuntivitis, empiema pleural, piodermia, infecciones osteoarticulares, abscesos torácicos, abscesos múltiples, infecciones del tracto urinario, infecciones de heridas, faringitis, endocarditis, pielonefritis, gangrena, neumonía, bacteremia asintomática etc. Se comporta como un patógeno oportunista en enfermedades como diabetes, hepatopatías, cáncer, insuficiencia renal o cardíaca y otros estados patológicos tratados con corticosteroides (11,15).

En Japón fueron reportados dos casos raros de infección en adultos por estreptococos del grupo B causante de absceso al pulmón y espondilitis piogénica (35).

6. Manifestaciones Clínicas

a. Infecciones neonatales tempranas

La infección estreptocócica neonatal se ha clasificado en temprana y tardía de acuerdo con la edad en que se inicia (23).

La incidencia de infección temprana se produce en los primeros 7 días de vida con rangos de 1.3 a 3.7 en 1000 nacimientos (23).

En una infección neonatal temprana sin desarrollo de meningitis los serotipos mas comúnmente aislados son I (Ia, Ib, Ia/c), II y III (23).

Están asociadas con complicaciones obstétricas y con prematurez. Los signos y síntomas son letargo, apnea o bradicardia, irritabilidad, hipertermia (15,23)

Las manifestaciones clínicas comunes de infección de ataque temprano son insuficiencia respiratoria, septicemia, (frecuentemente con shock) (15,23).

Payne y colaboradores identificaron seis causas que predicen esta infección: peso menor de 2,500 gramos en el neonato, recuento absoluto de neutrófilos menor que 1500 células/mm³, hipotensión, apnea, pH de sangre arterial inicial menor que 7.25 y una efusión pleural (36).

b. Infecciones neonatales tardías

La incidencia de infección tardía se produce de 7 días a 3 meses de vida con rangos de 0.6 a 1.7 en 1000 nacimientos (36).

La infección tardía es causada principalmente en mas del 90% por cepas con serotipos III. Para que una infección tardía ocurra, se requiere de una infección viral que precede al desarrollo de meningitis alterando el epitelio y promoviendo así la entrada del estreptococo en el torrente sanguíneo. Se asocia con una tasa de mortalidad menor; sin embargo, son comunes las secuelas neurológicas (15,23).

La manifestación clínica común de infección de ataque tardío se relaciona con bacteremia. Los síntomas son fiebre, irritabilidad, apnea hipotensión. Neonatos con meningitis tienen síntomas similares (15,23)

Otras infecciones que se asocian con infecciones tardías son osteomielitis, otitis media, etmoiditis, conjuntivitis, artritis y celulitis/adenitis (15,23).

7. Diagnóstico de laboratorio

a. Aislamiento

El aislamiento de *Streptococcus agalactiae* de sangre, líquido cefalorraquídeo, orina, y otros sitios y fluidos corporales normalmente estériles, no presenta dificultad. Sin embargo, en áreas donde existe microbiota bacteriana, el aislamiento del microorganismo se dificulta por un crecimiento rápido y abundante de otros microorganismos (11,37).

Estudios realizados en 1973 por Baker y colaboradores describieron un caldo selectivo para incrementar y facilitar el aislamiento de *Streptococcus agalactiae* de cultivos vaginales. Este medio contiene caldo Todd-Hewitt con sangre de carnero y dos antibióticos incorporados, ácido nalidíxico y sulfato de gentamicina (37). El caldo selectivo fue preparado adicionando 0.5 ml de solución antibiótica conteniendo ácido nalidíxico (15ug/mL) y sulfato de gentamicina (8 ug/mL) a un tubo con 4.75 mL de caldo de Todd-Hewitt y 0.25 mL de sangre de carnero desfibrinada, la preparación del medio es estable por 4 semanas a 4°C. Demostrando una alta selectividad, inhibiendo microorganismos Gram positivo y Gram negativo normales, sin afectar las cepas de estreptococo (37) (anexo 3).

Investigaciones posteriores por Baker realizadas en cultivos vaginales de 500 mujeres universitarias para el aislamiento de estreptococos del grupo B, y utilizando el caldo selectivo reportaron 17.2% contra 9.4% en cultivo directo en placas de agar sangre (38).

Estudios realizados en 1999 en 910 mujeres embarazadas de los Altos, Chiapas reportaron una tasa de colonización de 8.6 %, en muestras vaginal y perianal para la detección de *Streptococcus* del grupo B, *Streptococcus agalactiae*, en el cual usaron el medio de transporte Stuart modificado (Culturette, Becton Dickinson), el aislamiento primario se hizo en placas de agar sangre de carnero al 5% adicionadas con 10 ug/mL de gentamicina y 15 ug/mL de ácido nalidíxico (Becton Dickinson) después de una incubación de 12 a 24 horas, a 37°C y en condiciones aeróbicas, a las colonias beta-hemolíticas se les realizó tinción de Gram, prueba de catalasa y prueba de CAMP, la identificación definitiva de grupo y serotipo se realizó por medio de aglutinación con látex (27).

Algunos autores han sugerido la utilización de pruebas intraparto para detectar la presencia de estreptococos del grupo B. Los medios de cultivo que permiten la detección del pigmento naranja producido por estreptococo del grupo B presentan una buena sensibilidad, pero son de utilidad sólo en aquellos casos en los que el parto se demore más de 12-24 horas (13).

De 1996 a 1998 el CDC (Center for Disease Control), Las Sociedades Españolas de Ginecología y Obstetricia y de Neonatología recomiendan para el estudio de las gestantes portadoras la toma conjunta de muestra vaginal y anorrectal o un cultivo vaginal y otro rectal entre la 35-37 semanas de gestación. Como técnica de cultivo, el empleo de caldos de enriquecimiento selectivos (por ejemplo, el caldo Todd-Hewitt con colistina y ácido nalidixico, o gentamicina y ácido nalidixico), con posterior cultivo en agar sangre e identificación del estreptococo del grupo B, a partir de las colonias aisladas, mediante la prueba de CAMP. Como alternativa al cultivo tras enriquecimiento, se recomendó el empleo del medio Granada (Biomedics, Alcobendas, Madrid), que es un medio específico, selectivo y diferencial basado en la detección del pigmento naranja-rojizo específico, permitiendo la identificación directa del estreptococo del grupo B y una sensibilidad igual a la del cultivo tras enriquecimiento (26,31,39,40).

b. Identificación

El tipo de hemólisis producida en agar sangre de carnero al 5% es muy útil para la diferenciación preliminar de cepas de estreptococos, la mayoría de estreptococos del grupo B son beta hemolíticos, producen una zona clara incolora alrededor de la colonia, lo cual indica lisis completa de los eritrocitos (20-22) (anexo 4).

Las pruebas de susceptibilidad a la bacitracina y trimethoprim sulfamethoxazole: casi siempre son resistentes a ambos (15,20,22).

Los estreptococos del grupo B tienen la capacidad de hidrolizar hipurato de sodio (14). La hipuricasa, una enzima hidrolítica producida por estos microorganismos, provoca la hidrólisis del hipurato de sodio, con la formación de benzoato de sodio y glicina. La ninhidrina se puede utilizar para detectar glicina, el único compuesto alfa amino formado por hidrólisis del hipurato con la aparición de un color púrpura intenso indica una reacción positiva (14,41).

La actividad hemolítica de la beta lisina estafilocócica sobre los eritrocitos se ve intensificada por un factor extracelular producido por estreptococos del grupo B, llamado factor de CAMP. Por lo tanto, toda vez que 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 de estreptococos por identificar 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 estriás. Para la prueba de CAMP que es positiva (14,20,22,41).

La capacidad de ciertos microorganismos de hidrolizar esculina en presencia de bilis al 1% y 4% produciendo esculetina que reacciona con una sal de hierro para formar un complejo oscuro o negro. Para estreptococos del grupo B la reacción será negativo porque no reaccionan (14,20).

Otras pruebas para identificar a los estreptococos del grupo B son inmunofluorescencia, aglutinación en látex, precipitina capilar (Lancefield), contraimmunoelectroforesis, y coaglutinación (20).

8. Tratamiento

Pruebas de sensibilidad recientes determinaron que los estreptococos del grupo B son susceptibles a penicilina, eritromicina, penicilinas sintéticas y cefalosporina (11).

La penicilina G es el antibiótico de elección para el tratamiento de las infecciones por este microorganismo. También se utiliza habitualmente la combinación de penicilina mas un aminoglucósido, generalmente la gentamicina, en el tratamiento de las infecciones graves, dada la sinergia que estos antibióticos presentan *in vitro*. La duración del tratamiento es variable, según la edad, gravedad, localización de la infección y respuesta clínica inicial (13,24).

Algunos estudios recientes ponen de manifiesto un aumento de la resistencia del estreptococo del grupo B a eritromicina y clindamicina (16 y 15% respectivamente), lo que puede plantear problemas a la hora de elegir la profilaxis antibiótica más adecuada en las gestantes alérgicas a los beta lactámicos. En el tratamiento de la

bacteriuria del embarazo, también suelen emplearse antibióticos de este grupo, manteniendo el tratamiento durante tres a siete días (13).

Estudios realizados en Corea demostraron resistencia de estreptococo del grupo B en cepas aisladas de muestras vaginal, anorrectal y uretral de mujeres embarazadas, a los antibióticos de clindamicina 13.3%, eritromicina 5%, y 98.3% para tetraciclina (18).

En base a datos epidemiológicos en España, en el documento de Consenso Español, para la prevención de la infección perinatal por estreptococo del grupo B o *Streptococcus agalactiae*, se recomienda administrar al comienzo del trabajo del parto, una de las siguientes opciones:

1. Ampicilina intravenosa 2 g, seguidos de 1 g cada 4 horas hasta su finalización (26,39).
2. Penicilina G intravenosa 5 millones de unidades, seguidas de 2.5 mU cada 4 horas hasta su finalización (26,39).

En caso de alergia a los betalactámicos administrar clindamicina intravenosa 900 mg cada 8 horas, o eritromicina intravenosa 500 mg cada 6 horas, hasta la finalización del parto (26,39).

Aunque en la actualidad no existen consenso sobre el uso de la profilaxis antibiótica en el caso de cesáreas selectivas practicadas a madres colonizadas por estreptococo del grupo B, se recomienda que se administre la profilaxis antibiótica 4 horas antes de la extracción fetal (26,39).

Estudios realizados en Australia de 1991-1997 indicaron que la incidencia de las infecciones tempranas por estreptococos del grupo B se redujo con el uso de antibióticos *intrapartum* (42).

La proporción de sepsis en neonatos de alto riesgo puede ser reducida por la administración de antibióticos (43). Con la administración ampicilina intravenosa, el riesgo de la infección temprana en infantes nacidos de mujeres con ruptura prematura de membranas es reducido en un 56% y el riesgo de infección es reducido en 36%; adicionando gentamicina puede incrementarse la eficacia que usando unicamente ampicilina. El tratamiento de las mujeres que presentan corioamnionitis con ampicilina y gentamicina durante la labor de parto, reduce el desarrollo de sepsis neonatal en un 82% y reduce el desarrollo de infección en un 86%. Por lo tanto las mujeres con

corioamnionitis o ruptura prematura de membrana y sus infantes deberían de ser tratadas con ampicilina y gentamicina intravenosa (43).

9. Prevención

La quimioprofilaxis *intrapartum* es un método para la prevención de infecciones tempranas. En 1986 Boyer y Gotoff demostraron que la quimioprofilaxis *intrapartum* reducía en las mujeres embarazadas el alto riesgo de una transmisión vertical para el infante, fiebre puerperal en la mujer y septicemia temprana en el infante (15).

Un estudio realizado en Guatemala en 1991 indica la importancia de reducir la mortalidad de recién nacidos y mujeres embarazadas en una comunidad rural, a través de información, orientación y cuidados pre y post natales y los resultados obtenidos fueron una reducción de 85% en la mortalidad infantil comparada con los datos control del área (44).

En 1996 el “Center for Diseases Control –CDC–”, la Academia Americana de Pediatría (AAP) y el Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos (ACOG), publicaron recomendaciones para la prevención de infección neonatal por estreptococo del grupo B (31,45,46). Estas recomendaciones contemplan las siguientes estrategias:

1. Detección vaginal y rectal de estreptococos del grupo B, *Streptococcus agalactiae*, en todas las mujeres entre las 35 y 37 semanas de gestación y la administración de antibióticos intraparto a todas las portadoras de estreptococos del grupo B y a todos los partos prematuros menor de 37 semanas (31,45,46).
2. Presencia de factores de riesgo obstétrico con enfermedad y consiste en la administración de antibióticos intraparto a mujeres con:
 - Hijo previo con enfermedad invasiva por estreptococos del grupo B.
 - Bacteriuria por estreptococos del grupo B durante el embarazo.
 - Gestación menor de 37 semanas.
 - Ruptura de membranas mayor de 18 horas

- Fiebre intraparto mayor de 38°C (31,45,46).

Se ha calculado que la primera estrategia aplicada en la detección de portadores de estreptococos del grupo B, *Streptococcus agalactiae*, previene el 78% de los casos de infección neonatal basada en el cultivo, mientras que la segunda basada en los factores de riesgo previene el 41% (47).

En 1998 las Sociedades Españolas de Ginecología y Obstetricia y de Neonatología, elaboraron recomendaciones cimentadas en los datos epidemiológicos existentes actualmente en España, muy parecidos a los de Estados Unidos y en la elevada frecuencia con que la enfermedad se presenta en ausencia de factores de riesgo obstétricos, y se acordó recomendar la administración de profilaxis intraparto a todas las gestantes portadoras de estreptococo del grupo B, *Streptococcus agalactiae* (39).

Entre algunas de las recomendaciones sugeridas por las Sociedades Españolas de Ginecología y Obstetricia (SEGO), para la profilaxis en recién nacidos de madres portadoras de estreptococo del grupo B, *Streptococcus agalactiae*, se encuentran las siguientes:

a) Recién nacidos sintomáticos:

- Cualquier recién nacido de madre portadora (tratada o no intraparto) con signos o síntomas de enfermedad debe someterse a evaluación diagnóstica completa y recibir tratamiento antibiótico de forma inmediata con ampicilina y gentamicina. La actitud posterior dependerá de la evolución clínica y de los resultados de las pruebas bioquímicas y microbiológicas (39).

b) Recién nacidos asintomáticos:

- Madre correctamente tratada (profilaxis iniciada como mínimo cuatro horas antes del final del parto y administración de dosis sucesivas cada cuatro horas hasta el final) y edad gestacional mayor de 35 semanas: al recién nacido se someterá a observación clínica durante 48 horas (39).
- Madre correctamente tratada y edad gestacional menor de 35 semanas: al recién nacido se le practicará recuento, fórmula leucocitaria y hemocultivo y se le someterá a observación clínica durante 48 horas (39).

- Madre con tratamiento incompleto (profilaxis iniciada menos de cuatro horas antes del final del parto o falta de las dosis sucesivas si el parto duró mas de cuatro horas): independientemente de la edad gestacional, al recién nacido se le practicará recuento, fórmula leucocitaria y hemocultivo y observación clínica durante 48 horas (39).
- Si durante el parto se han presentado signos o síntomas maternos o fetales que sugieran corioamnionitis, independientemente del tratamiento que se haya administrado intraparto, de la edad gestacional, y del estado del niño al nacer se iniciará tratamiento antibiótico empírico con ampicilina y gentamicina, la actitud posterior se establecerá como en el supuesto del recién nacido sintomático (39).
- Cuando por cualquier motivo una madre portadora no hubiera recibido profilaxis intraparto se recomienda administrar al recién nacido una sola dosis de penicilina G intramuscular durante la primera hora de vida (50,000 U si el peso al nacer es menor de 2.0 g o de 25,000 U si el peso es mayor). Estos recién nacidos se mantendrán bajo observación clínica durante 48 horas (39).

En países donde se han aplicado programas de prevención para estreptococos del grupo B a todas las embarazadas, han logrado reducir la incidencia de sepsis neonatal por este microorganismo de 1.85 hasta un 0.6 casos por mil nacidos vivos (31,39).

La administración endovenosa de antibióticos a las gestantes portadoras de estreptococos del grupo B, iniciada cuatro horas antes o más antes del nacimiento, es la única medida eficaz actualmente aceptada para interrumpir la transmisión vertical de este microorganismo y evitar la sepsis neonatal (24,48).

La administración de antibióticos durante la gestación resulta ineficaz para erradicar la colonización vaginal, ya que al suprimir el tratamiento, la vagina podría volverse a colonizar a partir del recto (24,48).

El desarrollo de vacunas contra estreptococos del grupo B, *Streptococcus agalactiae*, podría disminuir la necesidad de la profilaxis con antibióticos en un futuro, ofreciendo una protección a la mujer embarazada y adultos para quienes la incidencia de enfermedad y fatalidad son altos (49).

IV. JUSTIFICACIONES

La presencia de *Streptococcus* del grupo B, *Streptococcus agalactiae*, en el tracto genital de mujeres embarazadas es un marcador importante que determina el riesgo de transmitir infección al neonato durante el pasaje a través del canal de parto, provocando desde una simple colonización, hasta sepsis, meningitis o neumonía en el recién nacido (12,15).

Estudios realizados en 1973-1982 demostraron la presencia de *Streptococcus agalactiae* como agente causal de meningitis bacteriana en Guatemala en un 5-7% (50).

El primer estudio epidemiológico sobre *Streptococcus* del grupo B, *Streptococcus agalactiae*, en una población guatemalteca fue realizado en 1978, y los resultados obtenidos revelaron una prevalencia de 2.8% (11).

En los países en desarrollo, 30 a 40% de las muertes neonatales tienen relación con las infecciones (2,12). En Guatemala se tiene poca información de la situación epidemiológica de *Streptococcus agalactiae* como agente patógeno. Este aspecto es de suma importancia considerando la severidad de la infección neonatal y otras infecciones debidas a este microorganismo, así como, la relación de la transmisión materna y las posibles fuentes de infección.

En los últimos años se han realizado investigaciones en otros países sobre la prevalencia de colonización genital por *Streptococcus agalactiae* como lo refiere la literatura médico-científica mundial, por lo que fue conveniente establecer la prevalencia de colonización en una población guatemalteca de mujeres embarazadas (anexo 2).

Debido al alto riesgo que representa para el recién nacido la colonización vaginal materna por *Streptococcus agalactiae*, se hizo necesario realizar el presente estudio para determinar la prevalencia en mujeres embarazadas que asistieron a la consulta prenatal del Hospital General San Juan de Dios, con el fin de una mejor vigilancia perinatal y por lo tanto, de prevenir, diagnosticar y tratar oportunamente este tipo de infección.

V. OBJETIVOS

A. General

I. Determinar la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas que acuden a la consulta prenatal del Hospital General San Juan de Dios.

B. Específico

I. Determinar los factores asociados a la colonización producida por *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas.

VI. HIPÓTESIS

- La prevalencia de colonización causada por *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas es menor del 1% .

VII. MATERIALES Y METODOS

A. Universo de trabajo

1. Población

Pacientes embarazadas que acudieron a la consulta prenatal del Hospital General San Juan de Dios.

2. Muestra

Quinientas (500) mujeres embarazadas que acudieron a la consulta prenatal del Hospital General San Juan de Dios, (referirse al diseño del estudio).

a. La población a estudiar fue de mujeres embarazadas que asistieron al servicio de Ginecología de la consulta externa del Hospital General San Juan de Dios, de cualquier edad, etnia, religión y tiempo de gestación.

b. Consentimiento participación en el estudio: A cada paciente se le pidió su consentimiento por escrito para poder realizarle el estudio (anexo 5).

c. Entrevista: A cada paciente se le hizo una entrevista que proporcionó datos confidenciales en donde se orientó y explicó la importancia de las infecciones causadas por la colonización de *Streptococcus agalactiae*, como se podían contraer, que significaba un resultado positivo y un negativo, como prevenirlas etc, es decir que se evaluaron factores de riesgo (anexo 6).

d. Las identificaciones para cada paciente incluían un mismo número para el consentimiento, la entrevista, y cada una de sus muestras.

B. Recursos

1. Recursos humanos

- a. Muestra: 500 mujeres embarazadas
- b. Tesista : Br. Carmen Esthela Pereira Quiñónez.

- c. Asesores de Tesis: Lic. Blanca Samayoa Herrera MSC.
Colaboradores: Lic. Tamara Velásquez.
Dr. Héctor Fong.

2. Recursos institucionales

- a. Clínicas de Control Prenatal del Departamento de Ginecología del Hospital General San Juan de Dios

- b. Laboratorio Clínico de la Asociación de Salud Integral (ASÍ).

3. Recursos materiales

a. Equipo

- Refrigeradora
- Incubadora
- Pipetas serológicas
- Autoclave
- Campana Bacteriológica
- Balanza
- Estufa

- Mechero Bunsen
- Cronómetro

b. Reactivos

- Agar sangre base
- Agar Muller-Hinton
- Sangre de carnero al 5%
- Caldo Trypticase soya
- Caldo de Todd-Hewitt
- Sal de ácido nalidixico
- Sulfato de Gentamicina
- Reactivo de ninhidrina
- Agua tridestilada
- Hipurato de Sodio al 1%
- Discos de Bacitracina de 0.04 unidades
- Discos de SXT (1.25 mg de trimethoprim y 23.7 mg de sulfamethoxazole)
- Discos de antimicrobianos: penicilina G 10 U, ampicilina 10 mcg, ceftriaxone 30 mcg, eritromicina 15 mcg, amoxicilina / ácido clavulánico 30 mcg y cefazolina 30 mcg.
- Estandar 0.5 de MacFarland.

c. Cepas

- Cepa control de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)
- Cepa control de *Streptococcus* beta hemolítico del grupo B de Lancefield (proporcionada por Departamento de Microbiología de Hospital Roosevelt).

d. Instrumentos y otros

- Cajas de Petri
- Erlenmeyer
- Probetas calibradas

- Frascos estériles
- Papel pH
- Guantes descartables
- Mascarilla
- Bata
- Hisopos
- Espátulas
- Toallas de papel mayordomo
- Cinta testigo
- Calibrador o regla
- Asas bacteriológicas en argolla y en punta
- Jarro con candela y humedad
- Tubos de rosca de vidrio
- Gradillas
- Jeringas de 10, 5 y 1 mL
- Tapones plásticos
- Espátulas
- Papel kraft
- Marcadores
- Maskingtape
- Jabón
- Toalla
- Pinzas
- Tijeras

C. Procedimiento

Para cumplir con los objetivos de este estudio se llevaron a cabo las siguientes actividades:

I. La población a estudiar fue de 500 mujeres embarazadas que asistieron al servicio de Ginecología de la consulta externa del Hospital General San Juan de Dios, de cualquier edad, etnia, religión y tiempo de gestación.

- a. A cada paciente se le pidió su consentimiento por escrito para poder realizarle la prueba (anexo 5).
- b. Se les hizo una entrevista que proporcionó datos confidenciales para poder orientar a la paciente y explicarle la importancia de las infecciones causadas por la colonización de *Streptococcus agalactiae*, como se podían contraer, que significaba un resultado positivo y un negativo, como prevenirlas etc, es decir que se evaluaron factores de riesgo (anexo 6).
- c. Las identificaciones para cada paciente incluyeron un mismo número para el consentimiento, la entrevista, y cada una de sus muestras.

2. Obtención de la muestra:

- a. Se le pidió a cada una de las pacientes que se acostara en la camilla y se colocara en posición ginecológica, luego se procedió a tomar cada una de las muestras: vaginal (obteniéndose del tercio externo de la vagina) y la anorrectal (de la zona anorrectal) recogiendo el material de cada una con dos hisopos estériles que se colocaron inmediatamente en el caldo de enriquecimiento selectivo que se preparó para este estudio (0.5 mL de solución antibiótica conteniendo 15 ug/mL de ácido nalidíxico y 8 ug/mL de sulfato de gentamicina + 4.75 mL de caldo de Todd-Hewitt y 0.25 mL de sangre de carnero al 5% (21,37).

3. Procedimiento para la identificación de *Streptococcus agalactiae* por el método microbiológico convencional: (anexo 7)

- a. El caldo de enriquecimiento selectivo con los dos hisopos conteniendo el material vaginal y anorrectal se incubó durante 6 horas a 37°C
- b. Se sembró por rayado en una caja de agar sangre de carnero al 5%

c. Se incubó a 35-37°C por 24-48 horas en una atmósfera con 10% de dióxido de carbono (jarra con candela).

d. Transcurrido este tiempo, se observó cada una de las cajas, y cuando se encontró la presencia de colonias con beta hemólisis, éstas fueron identificadas empleando las siguientes pruebas:

e. Prueba de Taxo de Bacitracina:

Se utilizaron discos de bacitracina de 0.04 unidades. En una caja de agar sangre de carnero al 5% se colocó un inóculo abundante de cultivo puro con un estriado de 1 cm de diámetro aproximadamente, luego se colocó el disco e incubó a 35-37°C por 24 horas en jarra con CO₂.

Interpretación de resultados: cualquier halo de inhibición alrededor del disco se consideraba positivo y resistente cuando no existía halo de inhibición alrededor del disco (20-22).

f. Prueba de Taxo de Trimethoprim sulfamethoxazole:

Se utilizaron discos conteniendo 1.25 mg de trimethoprim y 23.75 mg de sulfamethoxazole. En una caja de agar sangre de carnero al 5%, se colocó un inóculo abundante de cultivo puro con un estriado de 1 cm de diámetro aproximadamente, luego se colocó el disco e incubó a 35-37°C por 24 horas en jarra de CO₂.

Interpretación de resultados: cualquier halo de inhibición alrededor del disco se consideraba positivo y resistente cuando no existía halo de inhibición alrededor del disco (20-22).

g. Prueba para Hidrólisis del Hipurato de Sodio al 1%:

Se inocularon tubos preparados con 0.4 mL de hipurato de sodio al 1% en agua destilada, con las colonias de cultivo puro; la suspensión final debía observarse turbia y lechosa. Se incubó por 2 horas a 36-37°C. Se añadió 0.2 mL del reactivo de ninhidrina y observó la aparición de un color morado intenso que indicaba una reacción positiva (14,20,22,41).

h. Prueba de CAMP :

Sobre un medio de agar sangre de carnero al 5% se hizo una estría recta a lo largo de toda la caja con una cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) productor de doble zona de beta hemólisis. Se hizo una estría con el *Streptococcus* beta hemolítico a identificar, perpendicular a la estría de *S. aureus* pero que no la tocara. Se incubó en jarra con CO₂ por 18-24 horas a 36°C. Se interpretó como positivo si se producía una flecha de intensa beta hemólisis donde estaban cerca las dos bacterias (20-22,41)

i. Las cepas identificadas como *Streptococcus agalactiae* se les procedió a realizar susceptibilidad antibiótica por la prueba de disco-placa de Bauer-Kirby (51-54).

4. Procedimiento para la prueba de susceptibilidad antibiótica:

a. Preparación de las placas: El agar seleccionado para este procedimiento fue Mueller-Hinton con sangre de carnero al 5%, cada placa tenía un espesor del agar de 4 mm (53).

b. Preparación del Inóculo: Se pasaron 4-5 colonias del cultivo puro a 5 mL de caldo tripticasa soya con una turbidez comparable al estándar 0.5 de MacFarland (0.5 mL de una solución de cloruro de bario (1.175% p/v) a 99.5 ml de ácido sulfúrico (0.36N. 1% v/v). Si el desarrollo de la turbidez no es la comparable con la turbidez estándar se debería incubar de 2-8 horas a 35°C (20,51).

c. Siembra de Placas: Se introdujo un hisopo estéril en el inóculo estandarizado, presionando sobre las paredes del tubo para remover el exceso, luego se pasó el hisopo sobre la superficie del agar en diferentes direcciones para que toda ella quedara impregnada, se dejaron secar las placas de 5-15 minutos a 37°C.

d. Colocación de los discos: Sobre la superficie inoculada se colocaron cada uno de los discos dejando un espacio entre uno y otro. Los discos de antimicrobianos que se utilizaron en este estudio fueron penicilina G (P) de 10

unidades, eritromicina (E) de 15mcg, ceftriaxona (Cro) de 30mcg, cefazolina (Cz) de 30 mcg, ampicilina (A) de 10 mcg y amoxicilina/ácido clavulánico (Ac) de 30

mcg. recomendados según estudios realizados previamente (54).

Se incubaron las placas a 36°C durante 18 horas.

e. Medida de las zonas de inhibición: Se leyó la medida del diámetro de los halos de inhibición para cada uno de los discos con un calibrador o regla. Interpretando la sensibilidad (susceptible, intermedio y resistente) de acuerdo a tablas patrones (51,52,54).

D. ANÁLISIS Y MANEJO DE DATOS

1. Diseño del estudio

Estudio descriptivo observacional prospectivo y de seguimiento con muestreo no probabilístico por conveniencia, todos los datos se almacenaron en el programa epidemiológico Epi-Info 6.

2. Tamaño de la muestra

Por conveniencia, no probabilístico, consecutivo de 500 mujeres embarazadas que acudieron a la consulta prenatal del Hospital General San Juan de Dios.

3. Análisis estadístico

Los análisis se efectuaron con un nivel de confianza del 0.05. La variable de respuesta fue la proporción de usuarios con resultados positivos y negativos para las diferentes pruebas.

4. Análisis de variables

Se llevó a cabo un análisis univariado a través del uso de frecuencias, seguido de un análisis bivariado por la prueba de chi cuadrado.

VIII. RESULTADOS

Durante el período de septiembre de 2002 a febrero de 2003, se obtuvieron muestras de 500 mujeres embarazadas que asistieron al servicio de Ginecología de la Consulta Externa del Hospital General San Juan de Dios, con el objetivo de conocer la prevalencia de colonización genital por *Streptococcus agalactiae*.

A cada grupo de pacientes que asistían diariamente se les informaba con pequeñas pláticas acerca de la importancia de las infecciones causadas por la colonización de *Streptococcus agalactiae* invitándolas a participar en este estudio. Luego de que cada una consentía por escrito en participar, se les informaba detalladamente del objetivo del proyecto, de los procedimientos de recolección de muestras, riesgos, beneficios y de la confidencialidad de la información proporcionada (ver anexo 5). Además se les realizó entrevistas que incluían datos generales demográficos y factores de riesgo asociados a estas infecciones (ver anexo 6).

Luego se procedió a obtener hisopados vaginales y anorrectales los cuales fueron colocados en un medio de caldo selectivo para su transporte al laboratorio y posterior identificación (ver anexo 7).

Esta muestra de 500 mujeres embarazadas consistió en un 55% (275) de jóvenes menores de 24 años, de ellas el 98% (488) vivían en la capital y municipios, el resto en los departamentos. La etnia que predominó fue la ladina con un 83% (414) y el 84% (419) eran amas de casa (ver Tabla No.1).

Tabla No. 1. Características demográficas de las mujeres embarazadas que participaron en el estudio durante el período de Septiembre 2002 a febrero 2003.

(N=500)		
Características	N	(%)
Edad (años) ¹		
<= 24	275	55.0%
> 24	225	45.0%
Estado civil		
Casada	159	32.0%
Otros	341	68.0%
Donde vive		
Capital	488	98.0%
Otros	12	2.0%
Zona Donde Vive		
Ciudad Capital	412	82.4%
San Pedro Ayampuc	21	4.2%
San José Pinula	15	3.0%
Palencia	13	2.6%
Otros	39	7.8%
Etnia		
Ladina	414	83.0%
Indígena	86	17.0%
Ocupación		
Ama de casa	419	84.0%
Estudiante	27	5.0%
Secretaria	13	3.0%
Otros	41	8.0%
Semanas de gestación ²		
<=24	235	47.0%
> 24	265	53.0%
Número de embarazos ³		
<= 2	271	54.2%
> 2	229	45.8%

¹ Media = 25 años, DE= 6.6 años, Edad Mínima= 14 años, Edad Máxima= 41 años; 25% mujeres tenía menos de 25 años.

² Media= 24 semanas, DE= 10 semanas, mínimo= 4 semanas, máximo= 40 semanas; mediana 28 semanas.

³ Media =2.91, DE= 2.15, mínima =1, máxima = 16

En 72 mujeres se observó colonización por *Streptococcus agalactiae* y el resto 428 no presentaron colonización a este microorganismo. De esta manera la prevalencia de mujeres colonizadas fue de 14.4% (Tabla No. 2).

Respecto a la edad, el grupo de mujeres mayores de 24 años fue el que mostró mayor prevalencia de colonización con 15.6% (35). En cuanto al estado civil, el mayor porcentaje de colonización se presentó en las mujeres solteras y unidas con 15% (51), mientras que en las casadas 13.2% (21) ($p>0.05$) (ver Tabla No. 2).

La etnia indígena presentó un 20% (17) para cultivos positivos en relación a la ladina 13.3% (55) ($p>0.05$) respectivamente. La ocupación que presentó mayor tasa de colonización fueron las amas de casa 15% (63) en comparación a las mujeres dedicadas a actividades diferentes al hogar 11% (9) ($p>0.05$) (ver Tabla No. 2).

Tabla No. 2. Características demográficas asociadas a las pacientes con cultivos vaginales y anorrectales positivos para *Streptococcus agalactiae*

(N=500)

Características	Total n (100%)	Presencia 72 (14.4%)	Ausencia 428 (85.63%)	OR ¹	IC ₉₅ ²	Valor p ³
Edad (años)						
< = 24	275 (55.0%)	37 (13.5%)	238 (86.5%)	0.84	0.49 - 1.44	0.51
> 24	225 (45.0%)	35 (15.6%)	190 (84.4%)			
Estado Civil						
Casada	159 (31.8%)	21 (13.2%)	138 (86.8%)	0.87	0.48 - 1.55	0.60
Otros	341 (68.2%)	51 (15.0%)	290 (85.0%)			
Etnia						
Ladina	414 (83.0%)	55 (13.3%)	359 (86.7%)	1.61	0.84 - 3.06	0.11
Indígena	86 (17.0%)	17 (20.0%)	69 (80.0%)			
Ocupación						
Ama de casa	419 (84.0%)	63 (15.0%)	356 (85.0%)	1.42	0.64 - 3.23	0.35
Otros	81 (16.0%)	9 (11.0%)	72 (89.0%)			

¹Odds Ratio = Relación de Riesgo; ²IC₉₅ = Intervalo de Confianza al 95% ; ³Valor p = Valor de la Probabilidad. Chi Cuadrado = 0.05.

En la Tabla No. 3 se describen algunos de los factores obstétricos. En esta muestra de mujeres, se observó que menos de 24 semanas de gestación proveía de un 51% de protección en colonización por *Streptococcus agalactiae* (OR=0.51;IC_{95%}=0.29-0.90;p=0.01). El tiempo de gestación mayor de 24 semanas presentó el mayor porcentaje de colonización 18.1% (48), en comparación de las que tenían menos de 24 semanas con 10.2% (24) . El 16.2% (37) de las mujeres tenían mas de dos embarazos y la pérdida de más de un hijo demostró una tasa de colonización de 15.3% (9) en relación a 14.3% (63) de las mujeres que no reportaron hijos muertos (p>0.05).

Tabla No. 3. Factores asociados al embarazo en pacientes con cultivos vaginales y anorrectales positivos para *Streptococcus agalactiae*.

(N=500)

Características	Total n (100%)	Presencia 72 (14.4%)	Ausencia 428 (85.63%)	OR ¹	IC ₉₅ ²	Valor p ³
Semanas de Gestación						
< = 24	235 (47.0%)	24 (10.2%)	211 (89.8%)	0.51	0.29 - 0.90	0.01
> 24	265 (53.0%)	48 (18.1%)	217 (81.9%)			
Número de Embarazos						
< = 2	271 (54.2%)	35 (12.9%)	236 (87.1%)	0.77	0.45 - 1.31	0.30
> 2	229 (45.8%)	37 (16.2%)	192 (83.8%)			
Hijos muertos						
> 1	59 (11.8%)	9 (15.3%)	50 (84.7%)	1.08	0.47 - 2.43	0.84
Ninguno	441 (88.2%)	63 (14.3%)	378 (85.7%)			

¹Odds Ratio = Relación de Riesgo; ²IC₉₅ = Intervalo de Confianza al 95% ; ³Valor p = Valor de la Probabilidad.

Algunos factores que pueden estar asociados con la colonización genital de estreptococos del grupo B de Lancefield en las mujeres embarazadas se encuentran resumidos en la Tabla No. 4. La edad de la primera relación sexual, reveló un 14.9% (54) de colonización en mujeres menores de 18 años contra 13.1% (18) en las mujeres mayores de 18 años ($p>0.05$).

Las mujeres embarazadas con mas de una pareja presentaron un 18.3% (28) de colonización con respecto a 12.7% (44) en las que tenían solo una pareja ($p>0.05$) como puede observarse en la Tabla No. 4.

Con respecto al contacto sexual presentaron un 13.3% (64) de cultivos positivos las mujeres que practicaban solo contacto vaginal ($OR= 0.17;IC_{95\%}=0.06-0.52;p=0.001$), en relación a 47.1% (8) de las mujeres que tenían contacto vaginal y otros. Es decir que las mujeres que tenían solo contacto vaginal tenían 17% menos riesgo de colonización por *Streptococcus agalactiae* en relación a las que practicaban otro tipo de contacto (anal y oral) (Tabla No. 4).

Entre las mujeres que usaban anticonceptivos se encontró que 17% (31) estaban colonizadas por *Streptococcus agalactiae*, contra 13% (41) que no usaban ninguno ($p>0.05$). Las mujeres que indicaron no usar barreras mecánicas intrauterinas reportaron 14.6% (70) en relación a las mujeres que si utilizaban alguna 10.5% (2), valores que no fueron significativos ($p>0.05$) (ver Tabla No. 4).

Tabla No. 4. Actividad sexual asociada a las pacientes con cultivos vaginales y anorrectales positivos para *Streptococcus agalactiae*. (N=500)

Características	Total n (100%)	Presencia 72 (14.4%)	Ausencia 428 (85.63%)	OR ¹	IC ₉₅ ²	Valor p ³
No usan ningún tipo						
de Anticonceptivo	317 (63.4%)	41 (13.0%)	276 (87.0%)	0.73	0.42 – 1.25	0.21
Usan algún tipo	183 (36.6%)	1 (17.0%)	152 (83.0%)			
Barrera mecánica						
Intrauterina						
Si	19 (3.8%)	2* (10.5 %)	17 (89.5%)	0.69	0.11 – 3.25	0.62
No	481 (96.2%)	70 (14.6%)	411 (85.4%)			
Edad de la Primera						
Relación Sexual						
< = 18	363 (72.6%)	54 (14.9%)	309 (85.1%)	1.16*	0.63 – 2.15	0.62
> 18	137 (27.4%)	18 (13.1%)	119 (86.9%)			
Número de Parejas						
Sexuales						
Una sola Pareja	347 (69.4%)	44 (12.7%)	303 (87.3%)	1.54	0.89 – 2.68	0.09
> de una Pareja	153 (30.6%)	28 (18.3%)	125 (81.7%)			
Contacto Sexual						
Solo Vaginal	483 (96.6%)	64 (13.3%)	419 (86.7%)	0.17	0.06 – 0.52	0.001
Vaginal y Otros	17 (3.4%)	8 (47.1%)	9 (52.9%)			

¹Odds Ratio=Relación de Riesgo; ²IC₉₅=Intervalo de Confianza al 95% ; ³Valor p = Valor de la Probabilidad.
*Este no es por chi cuadrada de Mantel Haenszel, el valor se obtiene por test exacto de Fisher.

En los cultivos vaginales y anorrectales que fueron identificados positivos para *Streptococcus agalactiae* se procedió a efectuarles susceptibilidad antibiótica y los resultados se resumen en la Tabla No. 5. De los antibióticos estudiados, los resultados de susceptibilidad fueron ceftriaxone 72 (100%), penicilina G 71 (99%), cefazolina 70 (97%), ampicilina y amoxicilina con 68 (94%). Mientras solo 54 (75%) fue susceptible a eritromicina (ver Tabla No. 5).

Tabla No. 5. Patrones de susceptibilidad antimicrobiana determinada para *Streptococcus agalactiae* de cultivos vaginales y anorrectales.

(N=500)			
Nombre del Antibiótico	Susceptible n = (%)	Intermedio n = (%)	Resistente n = (%)
Penicilina G	71 (99 %)	1 (1 %)	0 (0 %)
Ampicilina	68 (94 %)	3 (4 %)	1 (1 %)
Amoxicilina	68 (94 %)	3 (4 %)	1 (1 %)
Eritromicina	54 (75 %)	10 (14 %)	8 (11 %)
Cefazolina	70 (97 %)	2 (3 %)	0 (0 %)
Ceftriaxone	72 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

Las pruebas microbiológicas empleadas en el aislamiento e identificación de *Streptococcus agalactiae* (actividad hemolítica, susceptibilidad al disco de bacitracina, disco de trimethoprim sulfamethoxazole, hidrólisis del hipurato de sodio al 1% y la prueba de CAMP), fueron técnicas sencillas que pueden ser utilizadas en los laboratorios como rutina.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La identificación de mujeres embarazadas con mayor probabilidad de colonización por estreptococo del grupo B, *Streptococcus agalactiae* en el período perinatal debe realizarse para tratar oportunamente este tipo de infección y de prevenir ayudando a disminuir la transmisión perinatal.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio 14.4% de prevalencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* demuestra que se rechaza la hipótesis planteada para una prevalencia menor del 1%.

La tasa de colonización por *Streptococcus agalactiae* encontrada 14.4% aumentó 5 veces en comparación a la obtenida en otro estudio similar realizado por Cáceres en 1979 (11) que reportó 2.8%.

El uso de medios de transporte de enriquecimiento selectivo como el caldo de Todd-Hewitt con una solución antibiótica de ácido nalidixico y sulfato de gentamicina y sangre de carnero al 5% aumentó el número de casos encontrados de colonización por *Streptococcus agalactiae* de 14.4% en relación al 2.8% obtenido en otro estudio hospitalario como referencia próxima en tiempo (1979) (11,37).

Se pudo observar a través de este estudio que la estimación de la tasa de colonización por *Streptococcus agalactiae* puede ser variable debido a ciertos factores como el tipo de población atendida, las técnicas de aislamiento utilizadas, el número y sitio anatómicos de muestras obtenidas, así como la edad gestacional.

Se determinaron los factores demográficos de la población de mujeres embarazadas que acudió a la consulta prenatal y se encontró que la mayoría fueron menores de 24 años de edad, ladinas, amas de casa, solteras o unidas y que procedían de la capital. Se observó que la mayoría de mujeres eran de escasos recursos, provenientes de zonas marginales, multigestas, de baja escolaridad, favoreciendo estas condiciones a un mayor riesgo de colonización por *Streptococcus agalactiae* como lo refieren otros estudios (27) (ver Tabla No. 1).

En este estudio se encontró que la mayor colonización fue en las mujeres mayores de 24 años de edad, indígenas, amas de casa, unidas o solteras, con más de dos hijos, aunque estas variables no fueron significativas ($p > 0.05$). Es importante recalcar que el uso menos frecuente de los servicios de salud para la atención de los embarazos, las condiciones higiénicas desfavorables de partos atendidos por personal no médico y el número de embarazos puede incidir en la colonización por *Streptococcus agalactiae* (ver Tablas No. 2 y No. 3).

En relación con la actividad sexual el grupo de las mujeres menores de 18 años, con más de una pareja sexual, que usaban anticonceptivos y que no utilizaron ninguna barrera mecánica intrauterina ($p > 0.05$) no fueron factores que favorecieron la colonización vaginal por *Streptococcus agalactiae*. Sin embargo la razón de la variabilidad en la colonización por *Streptococcus agalactiae* de acuerdo a otros estudios, relacionan a factores como cambios de pH de la vagina, inmunoglobulinas secretorias, la competencia con otros microorganismos genitales y la frecuencia de infecciones urinarias (38) (ver Tabla No. 4).

En este estudio se encontró que las mujeres que practicaban otros tipos de contacto sexual (oral y anal) además del vaginal presentaron mayor colonización por *Streptococcus agalactiae* ($p = 0.001$). Esto demuestra que los diferentes tipos de contacto sexual pueden provocar mayor colonización, debido a los diferentes sitios en que se encuentra *Streptococcus agalactiae* como microbiota normal y su adquisición por el contacto genital (48) (ver Tabla No. 4).

Los únicos factores de riesgo significativos encontrados en esta muestra de mujeres fueron el tiempo de gestación mayor de 24 semanas y el tipo de contacto sexual ($p < 0.01$). Las mujeres con más de 24 semanas de gestación presentaron mayor colonización por *Streptococcus agalactiae*. Esto se explica en algunos reportes por la presencia de un bajo título de anticuerpos frente al antígeno polisacárido de la cepa colonizante (24) y el menor tiempo de gestación fue encontrado como un factor protector a la colonización por este microorganismo. Mientras los diferentes tipos de contacto sexual (vaginal, anal y oral) pueden provocar mayor colonización por los sitios en que se encuentra normalmente este microorganismo y por las condiciones higiénicas de la pareja (48).

Con respecto a los resultados microbiológicos todas las cepas de *Streptococcus agalactiae* aisladas tanto de muestras vaginales y anorrectales, presentaron características morfológicas similares en el agar sangre de carnero al 5%. Las colonias eran redondas, lisas, de color blanco grisáceas, pequeñas (0.5 – 1.0 mm de diámetro), con beta hemólisis bien definida como lo refiere la literatura (20-22).

De los resultados obtenidos con las pruebas que se emplearon para la identificación de *Streptococcus agalactiae* se observó que la prueba de hidrólisis del hipurato de sodio al 1% (método de Hwang y Ederer), era un método sencillo y rápido. La interpretación duró únicamente dos horas, tiempo durante el cual se observó la aparición de un color púrpura intenso que indicaba una reacción positiva. La prueba de CAMP se observó con la aparición bien definida de la forma de una cabeza de flecha, imagen característica que demostró un resultado positivo. Es importante que se utilicen cajas de agar sangre de carnero al 5% y no sangre humana para que se pueda observar este fenómeno y además el empleo de una cepa de *Staphylococcus aureus* de referencia (ATCC 25923) de doble hemólisis como lo indican diferentes autores (14,20,22,41). Con estas pruebas microbiológicas convencionales se llegó a determinar que deben de continuarse estudios de identificación de este microorganismo por métodos serológicos para establecer patrones de comparación que contribuyan a una mejor identificación de *Streptococcus agalactiae* (3,21,27).

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos como puede observarse en la Tabla No. 5, según lo refieren algunos autores la penicilina G es el antibiótico de elección para el tratamiento de las infecciones por *Streptococcus agalactiae*, el tiempo de duración del tratamiento dependerá de la edad, gravedad, localización de la infección y de la respuesta clínica inicial. Estudios recientes demostraron un aumento en la resistencia de este microorganismo a eritromicina en un 5%, en comparación a un 11% (8) encontrados en este estudio, esto conlleva a variaciones en los patrones de susceptibilidad producidos por los diferentes fenotipos de resistencia de este microorganismo (13,18,24,54), por lo que es necesario continuar estudios en la resistencia a este antibiótico.

Con respecto a la metodología para el procesamiento de las muestras en la identificación de *Streptococcus agalactiae* pueden observarse en los anexos 4 y 7. Los resultados obtenidos para las pruebas de hidrólisis del hipurato de sodio al 1% y CAMP fueron los esperados como lo demuestran la literatura consultada (14,20-22).

En cuanto al haber tomado muestras de dos sitios anatómicos diferentes (vagina y recto), existen evidencias de que la detección de estreptococos del grupo B mejora cuando se toman dos muestras para cultivo, que cuando solo se toma una. Recientemente Della Morte y col. en Italia encontraron en mujeres embarazadas una frecuencia de colonización, con la toma de una muestra de 17.8% y con las dos muestras de 21.2% (7,27,48)

En Guatemala no existe hasta el momento, una política institucional de detección de estreptococos del grupo B, *Streptococcus agalactiae* durante la gestación. Ello hace que solamente una mínima parte de embarazadas llegue al parto conociendo si son portadoras de este microorganismo. En esta situación las pruebas de detección serían ideales para decidir o no la administración de profilaxis intraparto en estos casos.

De acuerdo a medidas eficaces actualmente aceptadas para interrumpir la transmisión vertical de *Streptococcus agalactiae* y evitar la sepsis neonatal se recomienda la administración de antibióticos a las embarazadas portadoras de este microorganismo cuatro horas antes o antes del nacimiento debido que la administración de antibióticos durante la gestación resulta ineficaz para erradicar la colonización vaginal, ya que al suprimir el tratamiento, la vagina podría volverse a colonizar a partir del recto (24,48), por lo tanto con los resultados obtenidos en este estudio es necesario continuar con la detección de *Streptococcus agalactiae* en forma rutinaria.

X. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* fue de 14.4% por lo que se rechaza la hipótesis nula planteada.
2. Aunque el aislamiento de *Streptococcus agalactiae* indican colonización en sitios de vagina y recto en la población estudiada esto puede ser una fuente de infección y riesgo para los recién nacidos.
3. La identificación de grupos de embarazadas con colonización por *Streptococcus agalactiae* aumenta la posibilidad de una mejor vigilancia perinatal y por lo tanto de prevenir, diagnosticar y tratar oportunamente este tipo de infección tanto en la madre como en el recién nacido.
4. Los únicos factores asociados para la colonización por *Streptococcus agalactiae* fueron el tiempo de gestación y el contacto sexual.
5. Las mujeres con mas semanas de gestación y las que practicaban otros tipos de contacto sexual (oral y anal) además del vaginal presentaron mayor colonización por *Streptococcus agalactiae*.
6. La toma de las muestras de dos sitios, vaginal y anorrectal aumentan la detección de *Streptococcus agalactiae*.
7. El uso de medios de transporte de enriquecimiento selectivo como el caldo de Todd-Hewitt con una solución antibiótica de ácido nalidíxico y sulfato de gentamicina y sangre de carnero al 5% aumentan la probabilidad de aislamiento de *Streptococcus agalactiae*.

XI. RECOMENDACIONES

1. Las acciones encaminadas a la prevención y control de la colonización por *Streptococcus agalactiae* se deben dirigir a la atención de la población de mayor riesgo de colonización con el fin de disminuir las probabilidades de infección y la transmisión perinatal.
2. Es importante continuar el seguimiento de mujeres portadoras de *Streptococcus agalactiae* antes del parto con el fin de investigar a los niños nacidos de madres con cultivo vaginal y anorrectal positivo, por la relación de colonización materna e infección neonatal.
3. De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se recomienda la toma conjunta de muestra vaginal y anorrectal en el tercer trimestre del embarazo.
4. Es necesario que en Guatemala se diseñen estrategias adecuadas para los hospitales, en la detección de *Streptococcus agalactiae* que incluya el tiempo de gestación y gestantes a término que deben recibir profilaxis antibiótica intraparto, con el fin de prevenir la infección del recién nacido especialmente cuando existen factores de riesgo.
5. La severidad y magnitud de las infecciones provocadas por *Streptococcus agalactiae* tanto en la mujer embarazada como en el neonato, lleva a la necesidad de realizar un esfuerzo en las investigaciones futuras con la esperanza de encontrar mejores métodos de detección, para su efectivo control, prevención y vacunas que podrían disminuir la necesidad de profilaxis con antibióticos.
6. Es importante continuar estudios para evaluar otras técnicas de detección rápida para *Streptococcus agalactiae* y comparar los resultados con el cultivo convencional.
7. Es importante escoger adecuadamente los antibióticos a incluir en los antibiogramas para conocer la situación epidemiológica de la resistencia en nuestro medio y los patrones de susceptibilidad de *Streptococcus agalactiae*.

XII. REFERENCIAS

1. Ciudad Real L. Factor de riesgo en el embarazo en dos grupos poblacionales de Jalapa. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1999. 48p.
2. Pedroza C. Relación de los criterios de Phillip con los resultados de los cultivos realizados a neonatos con el diagnóstico de riesgo de sepsis. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de graduación, Facultad de Medicina) 1999. 52p.
3. Anzalone L, Cafferatta A, Pascale C, Javier A, Colonización por *Streptococcus agalactiae* en embarazadas: Incidencia y evaluación de una técnica rápida de detección. Uruguay 1998. Resúmenes de Trabajos Científicos API 99. 88p. (p.56).
4. Ruvinsky R, Bruno M, Infecciones Perinatales Bacterianas. Argentina 1997-2001. Consenso de Infecciones Perinatales I. 15p.
5. Schuchat A. *et al*/ Multistate case-control study of maternal risk factors for neonatal group B streptococcal disease. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13:623-629.
6. Beri R, Lourwood DL. Chemoprophylaxis for group B streptococcus transmission in neonates. *Ann Pharmacother* 1997;31:110-112.
7. Della Morte M, *et al*/ Colonization by group B hemolytic streptococcus in pregnancy. Note of prevention and therapy of the materno-neonatal infection. *Pediatr Med Chir* 1996;18:433-450.
8. Kieran E. *et al*, group B streptococcus (GBS) colonization among expectant Irish mothers. *Ir Med J* 1998;91:21-22.
9. Itakura A. *et al*, A prospective study on the relationship between intrapartum maternal group B streptococcal concentration and signs of infection in neonate. *J Obstet Gynaecol Res* 1996;2:101-105.
10. Salgado C. *et al*, Infección Perinatal por Estreptococo del grupo B: Enfoque Preventivo. Centro Médico IPAM Argentina 1995;1:1-3

11. Cáceres P. Epidemiología de la Infección por *Streptococcus* grupo B en Poblaciones a Riesgo. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1978. 45p.
12. CDC Group B Streptococcal site <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/gbs>
13. Bosch M, *et al*, Sepsis neonatal precoz por *Streptococcus agalactiae*. Estudio de diez años (1985-1994) y eficacia de la profilaxis intraparto. *Ana Esp Pediatr* 1997;46:272-276.
14. Koneman E, *et al*, Diagnóstico Microbiológico. Buenos Aires, Argentina: Panamericana. 1983. 533p. (p.297-309).
15. Remington J, Klein J. Infectious Diseases of the fetus and newborn. 4 ed. Saunders: USA. 1995. 1373p. (p.657-667,980-1054).
16. Pass M, *et al*, Prospective studies of group B Streptococcal infections in infants. *J Pediatr* 1979;95:437-443.
17. Parley M, *et al*, A population based assessment of invasive disease due to group B *Streptococcus* in non pregnant adults. *N Engl J Med* 1993; 328:1807-1811.
18. Uh Y, Jang IH, Yoon KJ, Colonization rates and serotypes of group B streptococci isolate from pregnant women in a Korean tertiary hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;16(10):753-756.
19. Feigin R, Cherry J, Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 4 ed. USA: Saunders, Vol. 2, 1998. 1414p. (p. 1089-1093).
20. Sonnenwirth A, Jarret L. Métodos y Diagnósticos del Laboratorio Clínico. 8 ed. Buenos Aires Argentina: Panamericana, 1986. Tomo II. 2240p. (p.1507-1521).
21. Lennette E, Balows A, Hausler W, Shadomy H, Manual of Clinical Microbiology. 4 ed. Washington, DC, USA: American Society for Microbiology, 1985. 1149p.

22. Finegold S, Martín W. Bailey-Scott. Diagnóstico Microbiológico. 6 ed. Buenos Aires Argentina: Panamericana, 1983. 670p. (p.161-171).
23. Long S, *et al*, Principles and Practice of Pediatric Infections Disease. EUA: Churchill Livingstone, 1997. 1821p. (p.812-818).
24. Boyer K, *et al*, Selective *intrapartum* chemoprophylaxis of neonatal group B streptococcal early-onset disease. II. Predictive value of prenatal cultures. J Infect Dis 1983;148:802-809.
25. Easmon C, *et al*, Is group B streptococcal screening during pregnancy justified? Br. J Obstet Gynaecol 1985;92:197-201.
26. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Madrid España. Justificación de una política de prevención de la enfermedad perinatal por estreptococo del grupo B (EGB). Recomendaciones. Enferm Infecc Microbiol Clín. 1999;17:138-140.
27. Ocampo M, Sánchez H, Nazar A. Factores asociados a la colonización por *Streptococcus* del grupo B en mujeres embarazadas de Los Altos, Chiapas. Salud Pública de México 2000;42(5):413-421.
28. Hammerschlag M, *et al*, Colonization with group B streptococci in girls under 16 years of age. Pediatrics 1977;60:473-477.
29. Cano F. Etiología de las Endometritis Post-parto en un Hospital de la Ciudad de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1977. 38p.
30. Moncada P. Sepsis Neonatal. Rev Med Santiago 1998;1(2):1-10
31. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: A public health perspective. MMWR 1996;45 (RR-7):1-24

32. Medline ® 1998/01-1998/10 England. Group B streptococci persist inside macrophages. www.nlm.gov/.
33. Medline ® 1998/01-1998/10 Early-onset sepsis in Pakistan: a case control study of risk factors in a birth cohort. www.nlm.gov/.
34. Medline ® 1998/01-1998/10 Sepsis at a neonatal intensive care unit a four year retrospective study (1989-1992). Israel. www.nlm.gov/.
35. Medline ® 1998/01-1998/10 Case report: Lung abscess caused by *S. agalactiae*. Japan. www.nlm.gov/.
36. Payne N, *et al*, Correlation of clinical and pathologic findings in early onset neonatal group B streptococcal infection with disease severity and prediction of outcome. *Pediatr Infect Dis J* 1988;7:836
37. Baker C, Clark D, Barrett F. Selective Broth Medium for Isolation of group B *Streptococci*. *Appl. Microbiol.* 1973;26:884-885
38. Baker C, *et al*, Vaginal Colonization with Group B *Streptococcus*. A Study in College Women. *J of Infectious Diseases* 1977;135(3):392-396.
39. Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO), Sociedad Española de Neonatología. Recomendaciones para la prevención de la infección perinatal por estreptococo del grupo B. *Prog Obstet Ginecol* 1998;41:431-435.
40. Rosa M, *et al*, New Granada Medium for Detection and Identification of Group B streptococci. *J. Clin. Microbiol.* 30:1019-1021.
41. Jean F, MacFaddin M. *Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria*. 2 ed. USA:William-Wilkins, 1980. 527p. (19-30,141-161).

42. Isaacs D, *et al*, *Intrapartum* antibiotics and early onset neonatal sepsis caused by group B *Streptococcus* and by other organisms in Australia. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:524-8
43. Benitz W, *et al*, Prevención antimicrobiana de la sepsis temprana por estreptococo del grupo B: Estimación de la reducción del riesgo basados en la revisión de literatura crítica. *Pediatrics* 1999;103(6):1
44. Gary L, *et al*, Research priorities and postpartum care strategies for the prevention and optimal management of neonatal infections in less developed countries. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:739-50
45. Committee on Infectious Diseases and Committee on Fetus and Newborn, American Academy of Pediatrics. Revised guidelines for prevention of early onset group B streptococcal (GBS) infection. *Pediatrics* 1997;99:489-496.
46. Committee on Obstetric Practice, American College of Obstetricians and Gynecologist. Prevention of early onset group B streptococcal disease in newborns. American College of Obstetricians and Gynecologist, Washington, DC 1996; ACOG Committee opinion n°173.
47. Rosentein NE, Schuchat A, Neonatal GBS Study Group. Opportunities for prevention of perinatal group B streptococcal disease: A multistate surveillance analysis. *Obstet Gynecol* 1997;90:901-906.
48. Cueto M, *et al*, Efficacy of a universal screening program for the prevention of neonatal group B streptococcal disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14: 810-812.
49. Schrag S, *et al*, Group B streptococcal disease in the era of *intrapartum* antibiotic prophylaxis. *N Engl J Med* 2000;342:1-7
50. Ramirez G. Diagnóstico de Meningitis Bacteriana por medio de la Contrainmunolectroforesis del líquido cefalorraquídeo. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1983. 63p.
51. Bauer W, Kirby W, Sherris J, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J. Clin. Path.* 1966;45: 493.

52. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. NCCLS 2002; 22(1).
53. Power D, McCuen P. Manual of BBL products and laboratory procedures. 6 ed. USA: Becton Dickinson, 1988. 389p. (p.67-77,204).
54. Control de Calidad SEIMC. Control de Calidad de Bacteriología (B-4/98). 6p.

XIII. ANEXOS

ANEXO I.

Tabla No. 1. Determinantes Antigénicos y Serotipo de *Streptococcus* del grupo B.

Serotipo		Antígenos de Polisacáridos		Antígenos de Proteína	
Actual	Histórico	Mayor	Menor	Presente	Histórico
la	la	la ^a	labc ^a	-	-
lb	lb	lb ^a	labc ^a	c ^a	lbc ^a
la/c	lc	la ^a	labc ^a	c ^a	lbc ^a
II	II	II ^a	--	c ^b	lbc ^b
III	III	III ^a	--	c, ^c X ^d , R ^d	lbc ^c , X ^d , R ^d
IV	--	IV ^a	--	c ^a , X ^d , R ^d	lbc ^a , X ^d , R ^d
V	--	V ^a	--	c ^a	--
VI	--	VI ^a	--	ND ^a	--

^a Anticuerpos con especificidad para estos antígenos que protegen ratones con cepas que contienen antígenos homólogos

^b De aislados de tipo II, aproximadamente 60% posee el antígeno proteico lbc.

^c Raro

^d El significado biológico es desconocido.

^aND No determinado

Fuente: (Ref. No.15)

ANEXO 2.

Tabla No. 2. Rango de Colonización Genital de *Streptococcus agalactiae* en Diferentes Poblaciones Geográficas.

CIUDAD	SITIO(S) DE colonización	PREVALENCIA (%)	REFERENCIA No.
Brazil	Vagina	18.6 (25.6) ^a	15
Canadá	Vagina	7.6 - 11.6	15
China	Endocervix.perineo y recto ^b	19	15
Colombia	Vagina, recto y garganta	2	15
Inglaterra	Vagina	10.5 (20)	15
Escocia	Cérvix y uretra	16	15
India	Endocervix y vagina	5.8	15
Israel	Vagina	2.8 - 3.5	15
	Endocervix	6.5	15
Italia	Cérvix y vagina	6.0, 7.3 (7.5)	15
Japón	Vagina	2.9	15
Jordania	Vagina, recto y orina	30	15
Libia	Vagina	5	15
México	Vagina y cérvix	10	15
Nigeria	Vagina	19.5	15
Arabia Saudita	Vagina	5.1 - 9.2 (13.9)	15
España	Vagina y /o recto ^b	11.5	15
Tailandia	Genital	6	15
Estados Unidos	Canal de nacimiento	25	15
Holanda	Vagina, cérvix	7.9, 6.3 (13.9)	15
Argentina	Vagina	10	10
Corea	Vaginal, anorrectal, uretral	5.9	18
Guatemala	Vagina y endocérvix	2.8	11
Guatemala	Vaginal y anorrectal	14.4	Presente estudio

^aRango de colonización general, sitios múltiples, dado en grupos

^bNo especificado para el sitio anatómico.

Fuente: (Ref. No. 10,11,15,18)

ANEXO 3.

Tabla No. 3. Efecto del Caldo Selectivo en el Crecimiento de una Variedad de Microorganismos.

TIEMPO DE INCUBACIÓN (horas)	MICROORGANISMOS	RECUESTO DE COLONIAS	
		CALDO NO SELECTIVO ^a	CALDO SELECTIVO ^b
2	<i>Escherichia coli</i>	1.6 X 10 ³	0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.8 X 10 ⁴	0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.2 X 10 ³	0
	<i>Streptococcus viridans</i>	1.1 X 10 ³	1.2 X 10 ³
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1.8 X 10⁴	1.8 X 10⁴
4	<i>Escherichia coli</i>	7 X 10 ⁷	0
	<i>Klebsiella pneumonia</i>	1.4 X 10 ⁸	0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.8 X 10 ⁶	0
	<i>Streptococcus viridans</i>	5 X 10 ⁶	7 X 10 ³
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1.4 X 10⁶	1.7 X 10⁶
6	<i>Escherichia coli</i>	1 X 10 ⁸	0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 X 10 ⁸	0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	3 X 10 ⁷	0
	<i>Streptococcus viridans</i>	5.6 X 10 ⁵	2.1 X 10 ⁵
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	8 X 10⁷	3 X 10⁷

^aCaldo de Todd-Hewitt con sangre de carnero desfibrinada al 5%.

^bCaldo de Todd-Hewitt con sangre de carnero desfibrinada al 5%

ácido nalidíxico (15 ug/mL) y sulfato de gentamicina (8 ug/mL).

Fuente: (Ref No. 37)

ANEXO 4.

Tabla No. 4. Identificación Presuntiva de *Streptococcus agalactiae*

PRUEBA	RESULTADO
1. Actividad Hemolítica	Beta hemólisis
2. Susceptibilidad a la Bacitracina	Resistente
3. Taxo SXT	Resistente
4. Hidrólisis de Hipurato de sodio al 1%	Positivo
5. CAMP	Positivo

Fuente: (Ref. No. 20)

ANEXO 5

Carta de Consentimiento

Detección de *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas que acuden a la consulta prenatal del Hospital General San Juan de Dios.

Clínicas de Ginecología Hospital General San Juan de Dios, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Identificación: Este estudio está siendo conducido por Lic. Blanca Samayoa-Herrera MSc. (Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala), Dr. Héctor Fong y colaboradores (Clínicas de Ginecología Hospital General San Juan de Dios). Tesista Carmen Pereira. (Facultad de Ciencias Química y Farmacia USAC) Usted está invitada a participar como voluntaria dentro de un estudio sobre la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas que acuden a la consulta prenatal del Hospital General San Juan de Dios.

Procedimientos: Durante el estudio será entrevistada acerca de usted, su trabajo, familia y enfermedad. Además se le solicita consentimiento para revisar su historial médico. Las entrevistas se llevarán a cabo en la clínica. Si usted acepta participar en este estudio, esta información será parte de su historia clínica y será confidencial.

Riesgos: No existen riesgos específicos relacionados con su participación en este estudio que difieran de los riesgos mínimos asociados al seguimiento clínico regular que se realiza a todos los pacientes de la clínica.

Beneficios: Si usted desea participar, recibirá información acerca de su condición su tratamiento y prevención. Su participación ayudará a adquirir un mejor entendimiento de tratamiento, control y prevención de la misma.

Confidencialidad: Su información será mantenida en la confidencialidad de acuerdo a la práctica médica estándar. Su nombre no será utilizado en ningún reporte o publicación resultante de este estudio. La información del estudio será codificada y guardada en archivos bajo llave. Solo el personal tendrá acceso a los archivos, cuando sea necesario.

Consideraciones Financieras: Su participación en el estudio no implicará ningún gasto para usted. No se le dará compensación directa por participar en el estudio.

Preguntas: Si usted tiene alguna pregunta o problema relacionado con este estudio, por favor no dude en contactar a la Licda Blanca Samayoa-Herrera, o con Carmen Pereira, al teléfono 2329589.

Participación Voluntaria: Su participación en este estudio es voluntaria. Usted puede decidir no ser parte del estudio o salir de el en cualquier momento y sin ningún perjuicio en su tratamiento médico.

Consentimiento:

1. Yo reconozco que mi participación en este estudio es voluntaria. Tengo la libertad para participar o salir del estudio en cualquier momento.
2. Yo doy el permiso a los investigadores de este estudio para usar la información recolectada en el cuestionario y concedo el acceso a mi archivo médico del Hospital General San Juan de Dios.

Nombre del paciente	Firma del Paciente		
No. de Registro del Estudio	No. de Historia Clínica	Fecha	Zona donde vive

ANEXO 6.

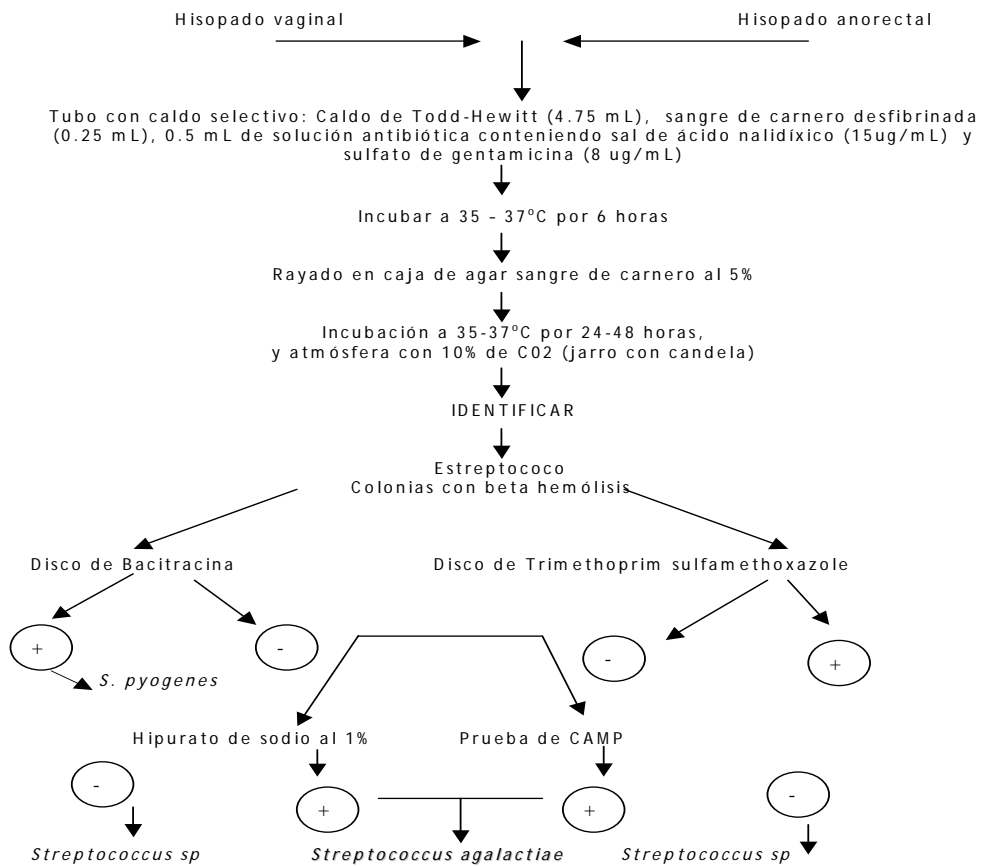
ENTREVISTA DEL ESTUDIO

No. de Estudio	No. de Historia Clínica	___ / ___ / ___
Fecha		
1. Edad ___ ___	2. Estado Civil	3. Ocupación: _____
	1. ___ Casada	
	2. ___ Unida	
	3. ___ Soltera	
	4. ___ Separada/Divorciada	
	5. ___ Viuda	
4. Etnia a la que pertenece	5. Semanas de Gestación: ___ ___	6. Número de embarazos
1. ___ Maya		1. ___ Partos
2. ___ Ladina		2. ___ Abortos
3. ___ Otra _____		3. ___ Hijos vivos
		4. ___ Hijos muertos
7. Tipo de Anticonceptivo usado anteriormente: _____		Tiempo de usarlo _____
8. Edad a la que tuvo su primera relación sexual _____	9. Número de Parejas Sexuales _____	
10. Cuando tiene relaciones sexuales usa:		
	1. ___ Condón	3. ___ Duchas vaginales
	2. ___ Talcos	4. ___ Lubricantes
		5. ___ Otros
11. Tipo de Contacto Sexual	12. Ha padecido de:	
1. ___ Vaginal	1. ___ Infecciones urinarias	
2. ___ Anal	2. ___ Enfermedades venéreas:	
3. ___ Oral	3. ___ Sífilis ___ Gonorrea ___ Tricomonas ___ Cándida	
13. Padece o ha padecido de los siguientes síntomas		
1. ___ Flujo Vaginal: Color _____ cantidad: abundante ___ regular ___ escaso ___		
2. ___ Picazón		
3. ___ Dolor y Ardor al Orinar		
4. ___ Fiebre		
5. ___ Otros _____		

14. Tiempo de Presentar síntomas
 1. Menor de 7 días
 2. 7 – 14 días
 3. Mayor de 14 días
15. Se ha hecho cultivos de orina
 1. Si 2. No
 Resultados: 1. Positivo 2. Negativo
 Fecha: ___/___/_____
16. Ha tomado tratamiento: Antibióticos _____ Otros: _____
17. Se ha hecho pruebas para detectar *Streptococcus* del grupo B (*Streptococcus agalactiae*)
 Si No Resultado Positivo Resultado Negativo
 fecha ___/___/_____
18. Resultado de las pruebas realizadas: fecha ___/___/_____
- Streptococcus agalactiae* (hisopado vaginal y anorrectal: Positivo Negativo

ANEXO 7

(Figura No.1) Procedimiento Microbiológico de las Muestras.



Carmen Esthela Pereira Quiñónez

Autora

MSc. Blanca Elizabeth Samayoa Herrera

Asesora

Lic. Martín Néstor Gil

Revisor

Licda. Alba Marina Valdés de García

Directora Escuela de Química Biológica

MSc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán

Decano