

Universidad Nacional Autónoma De Nicaragua, León
Facultad De Ciencias Médicas
Departamento De Microbiología Y Parasitología
Carrera Bioanálisis Clínico



Monografía para optar al Título de Licenciatura en Bioanálisis Clínico

“Prevalencia de colonización recto-vaginal de serotipos antibiótico-resistentes de *Streptococcus agalactiae* del grupo B en mujeres embarazadas con ≥ 35 semanas del Sector de Salud Mantica Berio”

Autora:

Bra. Tatiana Valeria Berrios Téllez

Tutores:

Dra. Teresa Alemán Rivera. M.Sc
Profesora Titular
Dpto. Microbiología y Parasitología.

Dr. Samuel Vílchez
Profesor Titular
Dpto. Microbiología y Parasitología.

León, febrero del 2022

“A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD”

Tabla de Contenido

I. Resumen	6
II. Introducción	1
III. Antecedentes.....	3
IV. Planteamiento del problema.....	5
V. Justificación	6
VI. Objetivos.....	7
VI.1. Objetivo general	7
VI.2. Objetivo específico	7
VII. Marco teórico.....	8
VII.1. Generalidades de los <i>Streptococcus spp.</i>	8
VII.2. Perspectiva histórica.....	9
VII.3. Clasificación y tipificación.....	10
VII.4. Fisiología y estructura	11
VII.5. Patogenia e inmunidad	12
VII.6. Epidemiología	13
VII.7. Tipo de infecciones	13
VII.8. Infección durante el embarazo.....	14
VII.9. Enfermedad neonatal	14
VII.11. Ruptura prematura de membranas.....	17
VII.12. Gestaciones múltiples y paridad.....	17
VII.13. Aborto espontáneo	17
VII.14. Inóculo.....	18
VIII. Diagnóstico de laboratorio	19
VIII.1. Cultivo.....	20
VIII.2. Coloración gram.....	22
VIII.3. Prueba de catalasa	22
VIII.4. Prueba de camp.....	23
VIII.5. Aglutinación	24
VIII.7. Interpretación de resultados	24
VIII.8. Limitaciones	25
VIII.9. Pruebas moleculares	25
VIII.10. Antibiograma	26

IX. Prevención de la infección	26
X. Tratamiento para mujeres con factores de riesgo:	28
X.1. Situaciones especiales	28
XI. Vacunación: estrategias vacunales.....	29
XII. Mecanismo de resistencia de GBS.....	30
XIII. Diseño metodológico	33
XIII.1. Tipo de estudio:.....	33
XIII.2. Periodo de estudio:	33
XIII.3. Área de estudio:	33
XIII.4. Población de estudio:	33
XI.5. Muestra:.....	33
XI.6. Selección de los individuos: (procedimiento de muestreo)	33
XI.7. Criterio de Inclusión:.....	33
XI.8. Criterios de exclusión:.....	33
XI.9. Unidad de análisis:	33
XI.10. Fuente de información:.....	33
XI.11. Consideraciones Éticas.....	34
XI.12. Procesamiento de las muestras para identificación de GBS.....	34
XI.13. Análisis de datos.....	40
XIV. Operacionalización de variables.....	41
XV. Resultados.....	45
XVI. Discusión	49
XVII. Conclusiones	51
XVIII. Recomendaciones.....	52
XIX. Bibliografía	54
XX. Anexos	60

DEDICATORIA

A mis padres con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

A mis hermanos por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento gracias.

Finalmente, a mi abuelita y sin lugar a duda mi hija que son las dos personas más importantes de mi vida y que son el motivo de que cada día de la mejor versión de mí.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi gratitud a Dios, quien con su bendición llena siempre mi vida y a toda mi familia por estar siempre presentes.

Mi profundo agradecimiento a las autoridades por la oportunidad y la confianza que me brindaron de trabajar en este proyecto innovador y beneficioso.

De igual manera mis agradecimientos a mis tutores, asesores y profesores que me dieron de su tiempo, paciencia y todo lo que me enseñaron en el transcurso de esta investigación además de todo lo recibido en estos años de mi carrera. En especial a la quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer día a día como profesional, gracias a cada una de ustedes por su dedicación, apoyo incondicional y amistad.

Finalmente quiero agradecer a mis personas más cercanas, por apoyarme cuando más las necesito, por extender su mano en momentos difíciles y por el amor brindado cada día.

I. Resumen

El *Streptococcus agalactiae* es una causa importante de sepsis neonatal. En Nicaragua, se desconoce, los serotipos circulantes de esta bacteria. El objetivo de este estudio es determinar la prevalencia de colonización recto-vaginal de serotipos antibiótico-resistentes de *Streptococcus agalactiae* del grupo B en mujeres embarazadas con ≥ 35 semanas de gestación. Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal entre los meses de agosto del 2019 a marzo 2020, donde fueron captadas 111 embarazadas del centro de salud Mantica Berio. La prevalencia global de colonización fue del 21.6% (24/111). Se obtuvieron 32 aislados de las 24 mujeres colonizadas, donde el 53% provenían de la vagina y 47% del recto. La principal característica de las mujeres colonizadas fue una edad < 28 años 32.8% (19/58). Se identificaron 5 serotipos que son los siguientes: II y III con un 25%, seguido del Ia con un 21.9%, luego Ib con 15.6% y finalmente el serotipo V con un 12.5%. También, se logró determinar el patrón de resistencia de los aislados de *Streptococcus agalactiae* del grupo B donde: el 34% fueron resistentes a Eritromicina, 28% a Penicilina, 19% a Clindamicina y 9% a Vancomicina. Siendo los aislados pertenecientes a los serotipos II, III y V, los que presentaron patrones de resistencias variables entre un 16%-66% a todos los antimicrobianos ensayados. Este estudio demuestra la importancia de conocer la prevalencia, serotipos circulantes de GBS y su patrón de resistencia, información clave para futuras iniciativas de prevención de materna como las vacunas.

Palabras claves: *Streptococcus agalactiae*, enfermedad neonatal, serotipos, vacuna, resistencia.

ABREVIATURAS.

GBS: *Streptococcus del grupo B*

ACOG: American College of Obstetricians and Gynecologists

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

PCR: Polymerase chain reaction (reacción en cadena de la polimerasa).

RT-qPCR: Quantitative reverse transcription

MINSA: Ministerio de Salud.

OMS: Organización mundial de la salud.

CPS: Capsular polysaccharide

II. Introducción

Streptococcus agalactiae coloniza habitualmente las vías genitourinarias y gastrointestinales del humano sin afectar su vida diaria. La colonización en mujeres embarazadas es importante desde el punto de vista clínico, dadas sus posibles implicaciones para el binomio madre-hijo. ⁽¹⁾

Generalmente, la colonización materna es asintomática y muestra prevalencias variables, entre el 5 y el 30 %, a nivel mundial. Las mujeres gestantes colonizadas pueden transmitir esta bacteria a sus hijos, lo cual favorece el desarrollo de infección neonatal temprana en 1 a 2 % de los neonatos. ⁽¹⁾

La colonización durante el nacimiento es más probable cuando la madre es altamente colonizada (cuando la mujer se encuentra colonizada en vagina y también en recto). ⁽¹⁾

La tasa de mortalidad ha disminuido a menos del 5% debido al diagnóstico precoz y a la implementación de las medidas de prevención por parte del American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) y los Centers for Disease Control and Prevention (CDC); sin embargo, una proporción comprendida entre el 15% y el 30% de los niños que sobreviven a la meningitis presentan secuelas neurológicas, como ceguera, sordera y retraso mental grave. ⁽²⁾

En el año 2017 se realizó un metaanálisis de la prevalencia materna de colonización por GBS a nivel mundial se incluyó 390 artículos, 85 países y un total de 299924 mujeres embarazadas donde los resultados arrojaron que:

La colonización materna por GBS en todo el mundo fue del (15%). La prevalencia fue más alta en el Caribe (34%) y más baja en Melanesia (2%); sin embargo, esto incluía datos de solo 1 estudio.

En Europa, América del Norte y Australia había prevalencia similar (15% -21%), en el sur de África (25%), y África Occidental (14%), Centro América (10%) y Sur, Sudeste, y Asia oriental (9% -12%). ⁽³⁾

En el año 2019 se realizó un estudio para estimar la prevalencia combinada de la colonización rectovaginal por *S. agalactiae* entre mujeres embarazadas de 35 a 40 semanas de gestación en Nicaragua se observó una prevalencia del 14%. ⁽⁴⁾

En nuestro país no se efectúa un diagnóstico de rutina para la determinación de *S. agalactiae* debido a su costo elevado. Con el presente estudio se quiere determinar la prevalencia de colonización rectovaginal de serotipos antibiótico-resistentes de *S. agalactiae* del grupo B en mujeres embarazadas de 35 a 40 semanas para resaltar la importancia de este estudio, ya que la colonización por *S. agalactiae* en gestantes aumenta la morbimortalidad perinatal; de tal manera que la determinación de la colonización por esta bacteria en gestantes a término proporciona información útil para el manejo, tanto de la madre como del recién nacido.

III. Antecedentes

Antes de la introducción de las sulfonamidas y la penicilina en la década de 1940, los cocos grampositivos, en particular del género de *Streptococcus*, eran responsables de la mayoría de los casos de sepsis neonatal. A principios de la década de 1970, se observa un aumento de infecciones neonatales graves causadas por estreptococos del grupo B.⁽⁵⁾

Solorzano-Santos F et al., en 1981 en un estudio realizado en embarazadas mexicanas, se encontró una prevalencia de colonización por *S. agalactiae* del 1.5%.⁽⁶⁾ No obstante, estudios posteriores efectuados a principios de la década de 1990 encontraron que 10.3% de las embarazadas mexicanas estaban colonizadas con EGB, con una tasa de infección neonatal de 1 x 1500 recién nacidos vivos.⁽⁷⁻⁸⁾

Uh Y et al., en 1997 realizaron un estudio diseñado para proporcionar datos sobre las tasas de portador materno de GBS en mujeres coreanas, se cultivaron muestras de hisopos vaginales, anorrectales y uretrales de 459 mujeres embarazadas. La tasa de colonización por GBS en mujeres embarazadas y en sus bebés fue del 5,9% (27/459) y 0,7% (2/288), respectivamente. Las tasas de resistencia de GBS aislado de mujeres embarazadas fueron 13,3% a clindamicina, 5% a eritromicina y 98,3% a tetraciclina. La mayoría de los aislados de GBS de mujeres embarazadas pertenecían a los serotipos Ib (48,3%), Ia (24,1%) y III (20,7%).⁽⁹⁾

Tamariz O. Jesús. en Perú entre los meses de abril a octubre del 2002, se estudiaron 238 gestantes con 26 semanas o más de gestación que acudieron al consultorio externo del servicio de Obstetricia de los Hospitales Nacionales Arzobispo Loayza y Cayetano Heredia, mediante hisopado se obtuvieron muestras de secreción vaginal y anorrectal, logrando aislar *S. agalactiae* en 26 pacientes (10.9%). No se encontró asociación con tiempo de gestación, edad materna ni número de partos. De las 26 gestantes colonizadas por *S. agalactiae*, (36.4%) manifestaron haber presentado abortos previos.⁽¹⁰⁾

Nadja vielot et al, en nicaragua en el año 2019 realizaron un metaanálisis de la prevalencia de colonización recto-vaginal por GBS de 11 estudios que fue de 0,14 (IC del 95%: 0,09, 0,21). Se identificó heterogeneidad en el tamaño del efecto entre los sitios de estudio costeros (0,12 [IC del 95%: 0,07, 0,19]) y centrales (0,23 [IC del 95%: 0,18, 0,28]), y entre colonización rural (0,06 [IC del 95%: 0,02, 0,10]) y urbana (0,28 [IC 95%: 0,19, 0,37]) de mujeres embarazadas. La sensibilidad del GBS a la penicilina, el antibiótico de primera línea para la profilaxis intraparto fue de 0,89 (IC del 95%: 0,71 a 1,00), según siete estudios. La mayoría de los aislados de GBS fueron sensibles a los antibióticos recomendados. Aunque este panorama pudiese haber cambiado puesto que la resistencia antimicrobiana es variable no solo en tiempo sino en lugar por la facilidad de las bacterias de adquirir nuevas características de resistencia, lo cual hace prioritario el desarrollo de vacunas para combatir las infecciones por GBS, y por ende es imperativo conocer que serotipos son los que circulan en países como el nuestro. ⁽⁴⁾

IV. Planteamiento del problema

Aproximadamente el 60% de los niños que nacen de madres colonizadas por GBS son colonizados. La probabilidad de colonización durante el nacimiento es más elevada cuando la madre presenta alta colonización (colonización en recto y vagina). Otros factores de riesgo de colonización neonatal son el parto prematuro, la rotura prematura de membranas y la fiebre intraparto.⁽¹¹⁾

En el año 2019 se realizó un metaanálisis para estimar la prevalencia combinada de la colonización rectovaginal por GBS en mujeres embarazadas entre 35 a 40 semanas de gestación en Nicaragua, reportando una prevalencia del 14%. Sin embargo, es la fecha y se desconocen ¿Cuántos neonatos se ven afectados por GBS?, ¿Cuáles son los serotipos asociados a enfermedad neonatal?, ¿Cuál es el perfil de resistencia de estos serotipos y su impacto en la eficacia del tratamiento profiláctico intraparto?, todo lo cual es clave para el desarrollo de estrategias de prevención de mayor eficacia e impacto *i.e.*, la formulación y aplicación de vacunas basadas en evidencias locales. Por lo cual, en el presente estudio nos planteamos la siguiente pregunta:

¿Cuál es la prevalencia de colonización rectovaginal de serotipos antibiótico-resistentes de *Streptococcus agalactiae* del grupo B en mujeres embarazadas con ≥ 35 semanas del Sector de Salud Mantica Berio?

V. Justificación

La colonización por *Streptococcus agalactiae* tiene un efecto en el cuidado de la salud materno-infantil sumamente importante, puesto que este patógeno puede ser dañino en la mujer gestante, en el desarrollo del feto y por consiguiente en el neonato.

La bacteriuria por GBS se le ha relacionado con ruptura prematura de membranas, fiebre intraparto y parto pretérmino, además de las implicaciones para el neonato. Clínicamente la infección se manifiesta entre las primeras horas y los siete días de vida, como sepsis, neumonía o meningitis con una mortalidad actual, con cuidados neonatales óptimos, del 5%; sin embargo, casi la mitad de los recién nacidos que sobreviven a la infección presentan secuelas neurológicas. ⁽¹²⁾

El Ministerio de Salud de Nicaragua (MINSa) en el año 2007 incluyó en la hoja de control prenatal por primera vez la búsqueda de *S. agalactiae* en mujeres embarazadas en la semana 35 a la 37. Sin embargo, por diversas razones no contamos con información actualizada sobre la prevalencia de colonización materna. Aunque, un metaanálisis publicado en el 2019 refiere una prevalencia de colonización rectovaginal de 14%. Sin embargo, los pocos esfuerzos realizados como los antes mencionados se han limitado al aislamiento, cultivo e identificación de GBS en mujeres embarazadas por métodos microbiológicos clásicos y aglutinación en Latex, limitando el alcance y generación de conocimiento u evidencia clave como la identificación de serotipos circulantes. Así, el presente estudio contribuirá con la identificación de serotipos de GBS por ensayos moleculares como RT-qPCR, generando información clave que pueda servir para futuras tomas de decisiones ante una posible iniciativa de prevención de inmunización materna. Lo cual tendría un impacto directo en los indicadores de salud materno-infantil del país, pero sobre todo contribuiría a una reducción de la morbi-mortalidad materno-infantil.

VI. Objetivos

VI.1. Objetivo general

- Determinar la prevalencia de colonización recto-vaginal de serotipos antibiótico-resistentes de *Streptococcus agalactiae* del grupo B en mujeres embarazadas con ≥ 35 semanas del Sector de Salud Mantica Berio.

VI.2. Objetivo específico

- Describir las características sociodemográficas de la población de estudio.
- Determinar la prevalencia de colonización materna por *S. agalactiae* en mujeres embarazadas con ≥ 35 semanas del Sector de Salud Mantica Berio.
- Caracterizar molecularmente los aislados de *S. agalactiae*.
- Determinar el patrón de resistencia de acuerdo con los serotipos circulantes de *S. agalactiae*.

VII. Marco teórico

VII.1. Generalidades de los *Streptococcus spp.*

El género *Streptococcus* es un grupo formado por diversos cocos grampositivos que normalmente se disponen en parejas o en cadenas. La mayoría de las especies son anaerobios facultativos, y algunos crecen únicamente en una atmósfera enriquecida con dióxido de carbono. (crecimiento capnófilico) ⁽¹³⁾

La diferencia de especies de este género es complicada, debido a que se utilizan los tres sistemas diferentes enumerados a continuación: Propiedades serológicas (grupos de Lancefield A-W), Patrones hemolíticos (hemólisis completa o beta, hemólisis incompleta o alfa y ausencia de hemólisis o gamma γ) y Las propiedades bioquímicas (fisiológicas) ⁽¹³⁾

Sus exigencias nutricionales son complejas, y su aislamiento requiere el uso de medios enriquecidos con sangre o suero. Son capaces de fermentar hidratos de carbono, proceso que produce ácido láctico, y son catalasa-negativos. ⁽¹³⁾

S. agalactiae es la única especie portadora del antígeno del grupo B. Este microorganismo se describió inicialmente en un caso de septicemia puerperal. Aunque se trata de una entidad poco frecuente hoy en día, *S. agalactiae* se conoce en mayor medida por suponer una destacada causa de septicemia, neumonía y meningitis en los recién nacidos y por provocar enfermedad grave en los adultos. ⁽¹³⁾

Con sus trabajos pioneros, Rebecca Lancefield, en 1930, estableció el sistema de agrupación de Lancefield para los *S. agalactiae*. Los antígenos detectados por el sistema de agrupación de Lancefield son polisacáridos de pared celular (estreptococos A, B, C, F y G) o son ácidos lipoteicoicos de pared celular. (estreptococos grupo D y Enterococos) ⁽¹⁴⁾

La mayoría de los estreptococos de los grupos A, B y C poseen cápsula, compuesta de ácido hialurónico, lo cual impide la fagocitosis. La pared celular del *Streptococcus*

contiene antígenos proteicos de superficie (proteínas M, T, R, OF), carbohidratos (C) y ácido hialurónico. ⁽¹⁵⁾

La proteína M es un importante factor de virulencia, está relacionada a la inhibición de fagocitos, siendo encontrada casi exclusivamente en *S. pyogenes*. Las proteínas T y R no están relacionadas a virulencia, pero son útiles como marcadores biológicos. El anticuerpo contra la proteína M es el único capaz de opsonizar al *S. pyogenes*, una vez adquirido este anticuerpo protege al hospedero contra las infecciones; sin embargo, existen más de 100 serotipos diferentes de proteína M, por lo que los individuos se vuelven inmunes a determinados serotipos, pero frecuentemente aparecen nuevas cepas. ⁽¹⁶⁾

VII.2. Perspectiva histórica

El estudio de los *Streptococcus* 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. ⁽¹⁷⁾

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. ⁽¹⁷⁾

Antes que Fry, Lanfeciold y Hare habían identificado a estos microorganismos en cultivos vaginales de mujeres asintomáticas posparto. ⁽¹⁸⁾

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. ⁽¹⁹⁾

En la década de 1970, *S. agalactiae* se había convertido en el patógeno predominante causante de sepsis y meningitis en neonatos y lactantes menores de 3 meses. Se ha estimado que la incidencia de infecciones por *S. agalactiae* durante los primeros siete días de vida es de 1.1 a 3.7 casos por 1000 recién nacidos en Estados Unidos. ⁽²⁰⁾

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. ⁽¹⁷⁾

Con la instauración de medidas profilácticas, en los últimos 20 años, se reportan tasas 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. ⁽²⁰⁾

VII.3. Clasificación y tipificación

Los aislamientos de *S. agalactie* se clasifican en diez serotipos según las características antigénicas únicas de su polisacárido capsular (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII y IX). ⁽²¹⁾

Lancefield definió dos antígenos constituidos por carbohidratos de la pared celular, la sustancia específica del grupo B o sustancia C, común a todas las cepas de este serogrupo, y la sustancia específica de tipo o sustancia S, que permitió la clasificación de los serotipos. ⁽¹⁶⁾

A principios de la década de 1970, Lancefield publicó ciertas diferencias en las cepas del serotipo I, designados Ia, Ib y Ic. Estas cepas poseen un antígeno polisacárido capsular, Ia o Ib; además de que algunos Ia, y todas las cepas Ib, poseen también un antígeno proteico de superficie, llamado en la actualidad proteína C, que se encuentra en aproximadamente el 60% de las cepas de tipo II y raramente en los tipos III y IV. ⁽¹⁶⁾

Estudios realizados en un hospital de Corea del Sur reportaron 64 aislamientos de *S. agalactiae* de 459 mujeres embarazadas, los serotipos aislados fueron Ib (48.3%), Ia (24.1%) y III (20.7%). ⁽⁹⁾

En 1990 se encontró que tres nuevos serotipos capsulares IV, V y VI, estaban asociados con enfermedades humanas y caracterizados inmunológicamente y estructuralmente. ⁽²¹⁾

VII.4. Fisiología y estructura

Son cocos grampositivos en cadenas largas, anaerobio facultativo, hemolítico o no hemolítico, catalasa-negativos; reacciones positivas de CAMP e hidrólisis de hipurato. (importantes pruebas de identificación) ⁽¹⁴⁾

Son clasificados en función del hidrato de carbono específico de grupo (antígeno B) en la pared celular, específico de tipo en la cápsula y proteína de superficie (proteína C) ⁽¹⁴⁾

Los *Streptococcus agalactiae* forman cadenas cortas en las muestras clínicas y cadenas más largas en cultivo. ⁽¹⁴⁾

Crece bien en los medios enriquecidos con nutrientes tienen un aspecto mantecoso y una estrecha zona de β -hemólisis. Algunas cepas (1%-2%) no son hemolíticas, aunque su prevalencia puede haberse subestimado, puesto que las cepas no hemolíticas generalmente no se estudian con relación a la presencia del antígeno del grupo B. ⁽¹⁴⁾

Las cepas de *Stagalactiae* se pueden subdividir en función de la presencia de tres marcadores serológicos: El antígeno B o el antígeno polisacárido de la pared celular específico de grupo (compuesto de ramosa, N-acetilglucosamina y galactosa), los polisacáridos de la cápsula específicos de tipo (Ia, Ia/c, Ib/c, II, Iie, III a VIII), la proteína de superficie conocida como proteína C. ⁽¹⁴⁾

Los polisacáridos específicos de tipo son importantes marcadores epidemiológicos, siendo los serotipos Ia, III y V los que se asocian con mayor frecuencia a la colonización y la aparición de enfermedad. ⁽¹⁴⁾

El conocimiento de los serotipos específicos que se asocian a la enfermedad y de los cambios de los patrones de prevalencia de dichos serotipos también resulta importante para el desarrollo de vacunas. ⁽¹⁴⁾

VII.5. Patogenia e inmunidad

Los anticuerpos que se desarrollan frente a los antígenos capsulares específicos de GBS son protectores, un hecho que explica en parte la predilección de este microorganismo por los neonatos. ⁽¹⁴⁾

En ausencia de anticuerpos maternos, el neonato tiene riesgo de contraer la infección. Además, la colonización genital por GBS se relaciona con mayor riesgo de parto y niños prematuros están en situación de mayor riesgo de padecer la enfermedad. ⁽¹⁴⁾

La eliminación de GBS requiere la participación de las rutas funcionales clásica y alternativa del complemento, sobre todo la, III y V. ⁽¹⁴⁾

Como consecuencia, los niños prematuros colonizados, con valores de complemento fisiológicamente bajos o aquellos cuyos receptores para el complemento o el fragmento de los anticuerpos IgG no están expuestos en los neutrófilos tienen una mayor probabilidad de diseminación sistémica del microorganismo. ⁽¹⁴⁾

Por otra parte, se ha observado que los polisacáridos capsulares específicos de tipo de los estreptococos Ia, Ib y II poseen un residuo terminal de ácido siálico. El ácido siálico puede inhibir la activación de la ruta alternativa de complemento, interfiriendo así en la fagocitosis de estas cepas de GBS. ⁽¹⁴⁾

El *Streptococcus agalactiae* producen varias enzimas, como las ADNasas, hialuronidasa, neuraminidasa, proteasas, hipurasa y hemolisinas. Aunque estas enzimas son útiles en la identificación del microorganismo, se desconoce cuál es su función en la patogenia de la infección. ⁽¹⁴⁾

La capa gruesa de peptidoglucanos de la pared celular permite la supervivencia en superficies secas. Los polisacáridos capsulares (tipos Ia, III y V) inhiben la fagocitosis mediada por el complemento. Las enzimas hidrolíticas pueden facilitar la destrucción tisular y la diseminación sistémica de las bacterias. ⁽¹⁴⁾

VII.6. Epidemiología

Colonizan de forma asintomática el tracto respiratorio superior y el tracto genitourinario. La mayor parte de las infecciones de los recién nacidos se adquieren de la madre durante la gestación o en el momento del parto. ⁽¹⁴⁾

El *Streptococcus agalactiae* colonizan el aparato digestivo inferior y el aparato genitourinario. Entre un 10% y un 30% de las embarazadas presenta un estado transitorio de portadora vaginal, aunque la incidencia depende del momento de la gestación en el que se toma la muestra y las técnicas de cultivo utilizadas. ⁽¹⁴⁾

Los neonatos tienen mayor riesgo de infección si: Hay rotura prematura de membranas, parto prolongado, prematuridad o enfermedad materna diseminada por GBS, La madre no tiene anticuerpos específicos de tipo y tiene valores bajos de complemento. Las mujeres con colonización genital están en riesgo de desarrollar una sepsis posparto. ⁽¹⁴⁾

Aproximadamente el 60% de los niños que nacen de madres colonizadas son colonizados por los microorganismos de aquellas. La probabilidad de colonización durante el nacimiento es más elevada cuando la madre presenta colonización intensa. ⁽¹⁴⁾

Los serotipos que se asocian con mayor frecuencia a la enfermedad neonatal son los serotipos Ia (35%-40%), III (30%) y V (15%). La colonización del neonato, con el posterior desarrollo de la enfermedad, puede darse en el interior, en el momento del nacimiento o a lo largo de los primeros meses de vida. *S. agalactiae* representa la causa más frecuente de septicemia y meningitis en el recién nacido. ⁽¹⁴⁾

La administración de profilaxis antibiótica intraparto ha ocasionado una espectacular reducción de la enfermedad neonatal. ⁽¹⁴⁾

VII.7. Tipo de infecciones

Las bacterias llamadas GBS viven comúnmente en los tractos gastrointestinal y genital de las personas. El tracto gastrointestinal es la parte del cuerpo que digiere los alimentos e incluye el estómago y los intestinos. El tracto genital es la parte del cuerpo involucrada

en la reproducción e incluye la vagina en las mujeres. La mayoría de las veces, las bacterias no son dañinas y no hacen que las personas se sientan enfermas ni presenten ningún síntoma. ⁽²²⁾

La bacteria GBS puede causar muchos tipos de infecciones:

Bacteriemia (infección del torrente sanguíneo) y sepsis (la respuesta extrema del cuerpo a una infección)

Infecciones de huesos y articulaciones

Meningitis (infección del tejido que recubre el cerebro y la médula espinal)

Neumonía (infección pulmonar)

Infecciones de piel y tejidos blandos

El GBS causa más comúnmente bacteriemia, sepsis, neumonía y meningitis en los recién nacidos. Es muy poco común que el GBS cause meningitis en adultos. ⁽²²⁾

VII.8. Infección durante el embarazo

Raramente amenaza la vida de la gestante. El *Streptococcus* puede causar infección de vías urinarias, corioamnionitis, endometritis puerperal, pielonefritis, sepsis y muy raramente meningitis. La infección amniótica podría llevar a abortos espontáneos, recién nacidos muertos, abortos sépticos que pueden complicarse con endocarditis. ⁽²³⁻²⁴⁾

VII.9. Enfermedad neonatal

Los recién nacidos pueden ser colonizados de diferentes formas la primera es la transmisión vertical de la madre a través de su pasaje por el canal del parto y por circunstancias favorecedoras como la rotura prolongada de membrana, la cual produce sobre todo las infecciones precoces que se desarrollan en la primera semana de vida. ⁽²⁵⁾

La segunda es por contacto directo o inhalación cuando el niño pasa a través del canal del parto colonizado; la tercera es rara se da por transmisión hematógena. La cuarta es transmisión horizontal cuando el niño adquiere la infección por contacto directo como el GBS que coloniza a la madre o al personal de enfermería y cuando no se toman las

medidas básicas de higiene como el lavado de manos la cual explica la colonización tardía. ⁽²⁵⁾

En el neonato la enfermedad aparece como infección localizada o sistémica que va desde el nacimiento hasta el tercer mes de vida. Y se clasifica en dos formas clínicas y epidemiológicamente diferentes: sepsis temprana y sepsis tardía. La incidencia es más elevada después de un parto prolongado o complicado. ⁽²⁵⁾

La enfermedad temprana se adquiere antes o durante el momento del parto. Las manifestaciones clínicas son similares para todos los tipos de presentación las, más frecuentes son los signos respiratorios como, taquipnea, quejido, apnea y cianosis, los cuales se presentan en cerca del 80% de los casos. Letargia, tono muscular disminuido, bradicardia e hipotensión son otros signos y síntomas encontrados en estos pacientes. La tasa de letalidad es de 5-20% ⁽²⁶⁻²⁷⁾

La enfermedad tardía Sucede entre siete días y tres meses de edad postnatal, con un promedio de 27 días. Es poco común su relación con antecedentes obstétricos, como el parto pretérmino El serotipo III predomina en el 95% de los casos y la presentación más frecuente es la bacteriemia y sin foco y la meningitis. La mayoría de los neonatos afectados cursan con fiebre, irritabilidad, y signos y síntomas no específicos La tasa de letalidad ocurre entre 0 y 6% de los casos publicados. El ataque tardío raramente ocurre después del tratamiento por alguna enfermedad de ataque temprano. ⁽²⁶⁾

VII.10. Factores de riesgo

El papel de los factores demográficos y socioeconómicos han sido poco evaluado, no obstante, la existencia de estudios que evidencian que factores como la edad y el grupo étnico pueden jugar un papel importante en la infección por *S. agalactiae*. Aun cuando en esos estudios no se explican los mecanismos por los cuales esos factores podrían incrementar la tasa de colonización por GBS sí sugieren que ésta podría estar vinculada a condiciones de pobreza y alta marginación, lo que, a su vez, se podría constituir en un elemento importante para identificar grupos de alto riesgo entre la población general ⁽²⁸⁾

Se ha observado mayor tasa de colonización en las mujeres menores de 20 años, aunque otros estudios reportan que las mujeres mayores son las que tienen mayor probabilidad

de ser colonizadas por esta bacteria y esto se lo atribuyen a que las mujeres de mayor edad corresponden a una mayor cohorte de mujeres menos educadas, que utilizan en menor medida los servicios de salud y tienen mayor fecundidad respecto a las mujeres más jóvenes. ⁽²⁸⁾

La infección vaginal y prematura experiencia sexual aumentan el riesgo de ser portador. También lo aumentan el incremento de la actividad sexual, basado en la frecuencia de relaciones, tipo de práctica sexual, múltiples compañeros sexuales, como ya fue mencionado, asociado con la presencia de enfermedad de transmisión sexual. La asociación entre colonización por *Streptococcus* y el uso de anticonceptivos orales no ha sido confirmada. ⁽²⁹⁾

EL *S. agalactiae* es responsable del 5-29% de los casos de infección del tracto urinario, la presentación más frecuente de dicha infección es la cistitis, excepcionalmente pielonefritis. También puede manifestarse como bacteriuria asintomática. ⁽³⁰⁾

La bacteriuria asintomática se asocia con mayor riesgo de parto pretérmino, rotura prematura de membranas y recién nacidos de bajo peso; además, los cambios fisiológicos que ocurren durante la gestación favorecen a partir de la infección asintomática, el desarrollo de pielonefritis. ⁽³⁰⁾

Dentro de los microorganismos responsables de bacteriuria durante el embarazo cabe destacar que el *S. agalactiae* toma un papel muy importante en el desarrollo de esta. Se ha señalado que la infección de vías urinarias por SGB durante el embarazo representa un riesgo perinatal, ya que las mujeres que ellos estudiaron y cursaron con infección de vías urinarias por *S. agalactiae* tuvieron un riesgo mayor de ruptura prematura de membranas y parto pretérmino. ⁽³¹⁾

VII.11. Ruptura prematura de membranas

En lo que respecta a parto pretérmino y ruptura prematura de membranas la etiología de estas es plurifactorial, y se ha señalado que la infección clínica o subclínica del tracto genital puede determinar rotura prematura de membranas y prematuridad. ⁽³⁰⁾

En diferentes estudios se ha sugerido una asociación entre colonización del tracto genital por *S. agalactiae* y la presentación de rotura prematura de membranas y parto pretérmino, probablemente en relación con un mayor inoculo vaginal que favorece la infección ascendente y que puede tener una especial significancia al aumentar el riesgo de infección de estos recién nacidos. ⁽³⁰⁾

VII.12. Gestaciones múltiples y paridad

Algunos reportes han descrito que las mujeres multíparas tienden a ser, más colonizadas que las primíparas ⁽³²⁾

Otros han demostrado lo opuesto. Un estudio demostró que las madres primíparas jóvenes tuvieron igual duración de trabajo de parto y de ruptura prematura de membranas que mujeres multíparas, se concluyó que la paridad está relacionada al riesgo de enfermar por *S. agalactiae*, de manera independiente.

Un estudio encontró que mujeres multíparas han aumentado el riesgo de infección intraamniótica en general, independiente del efecto de duración de la ruptura de membranas y de la duración de la monitorización interna del trabajo de parto. ⁽¹²⁾

VII.13. Aborto espontáneo

El *S. agalactiae* es reconocido por causar muerte fetal intrauterina y el riesgo de que el bebé nazca con enfermedad por GBS, es alto entre mujeres con historia previa de enfermedad por GBS, complicándose en el puerperio.

En un estudio de casos y controles realizado en Kansas City encontraron que la mayoría de multigestas quienes sus bebés habían tenido sepsis de inicio temprano, tenían una historia de aborto espontáneo. Sin embargo, este estudio no pudo concluir asociación entre infección por *S. agalactiae* y abortos espontáneos. ⁽³⁴⁾

VII.14. Inóculo

El inóculo genital claramente afecta el eslabón que transmite el *S. agalactiae* desde la madre al bebé y permite que ocurra la enfermedad invasiva. Los investigadores saben que el riesgo de enfermar por *S. agalactiae* es más alto en recién nacidos de mujeres altamente colonizada.

Desde que la bacteria del *S. agalactiae* se introduce, puede multiplicarse en el líquido amniótico, el inóculo genital no necesariamente se relaciona de manera directa con el feto, la infección intraamniótica clínicamente ha sido asociada con el aumento en la concentración de bacterias del líquido amniótico.

Encontraron que en el 80.5% de muestras de líquido amniótico de mujeres con infección intraamniótica clínica, la muestra contenía al menos 102 unidades formadoras de colonia por milímetro cúbico, dato encontrado únicamente en el 8,8% de aquellas que no tenían infección intraamniótica clínica. Igual es el riesgo de corioamnionitis y enfermedad neonatal por *S. agalactiae*, al aumentar la duración de ruptura de membranas. ⁽³⁵⁾

VIII. Diagnóstico de laboratorio

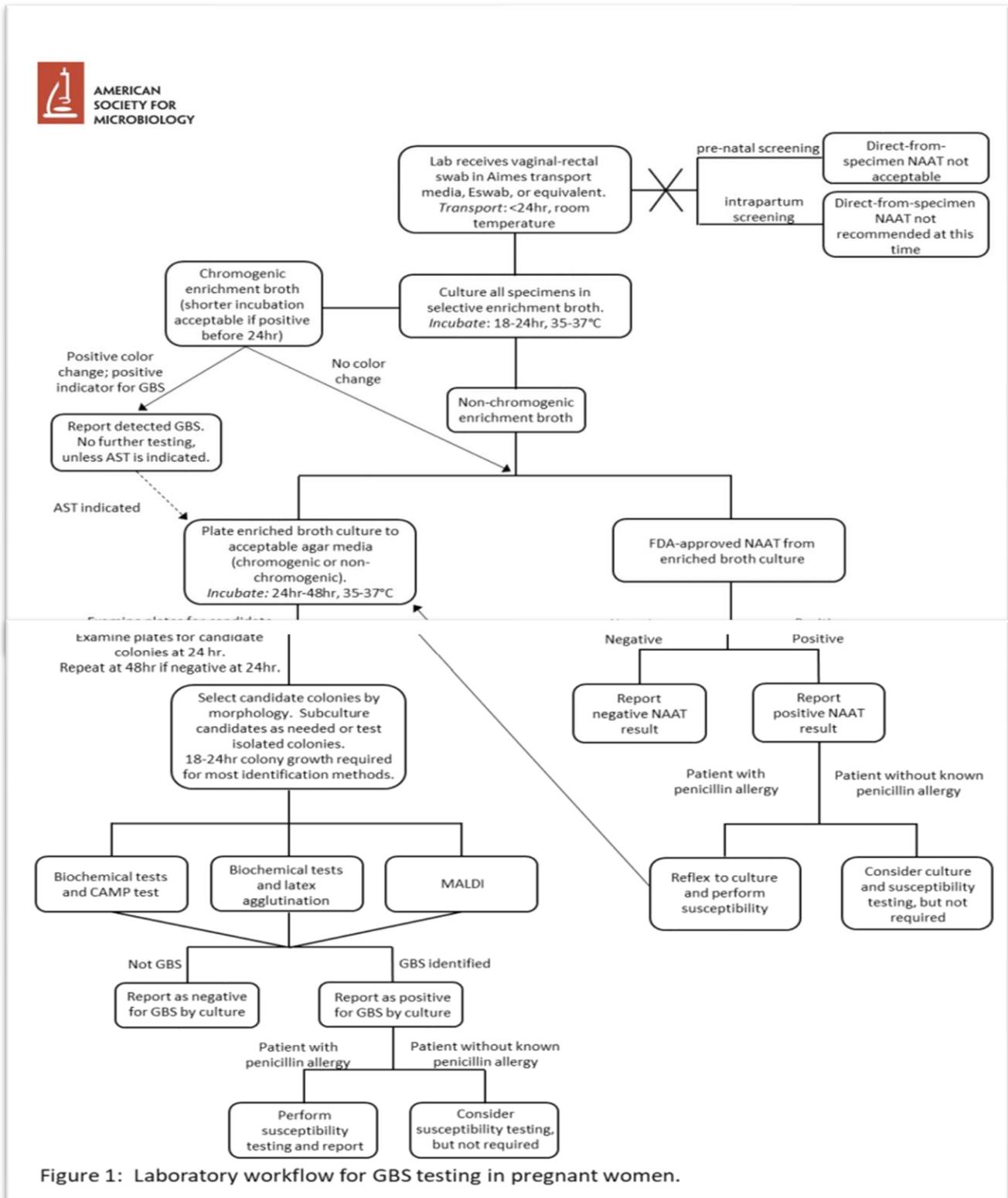


Figura 1. Flujo de trabajo de laboratorio para pruebas de GBS en mujeres embarazada.

VIII.1. Cultivo

Los *Streptococcus* se desarrollan con facilidad en un medio de cultivo enriquecido, produciendo grandes colonias después de 24 horas de incubación. La (β -hemólisis puede ser difícil de detectar o no producirse, y constituye un problema para la detección del microorganismo cuando hay otros microorganismos presentes en el cultivo. (p. ej., cultivo vaginal) ⁽¹⁴⁾

Por este motivo, la detección del estado de portadora de *Streptococcus* en las mujeres embarazadas exige la utilización de un caldo de cultivo selectivo al que se le añaden antibióticos (como caldo LIM con colistina y ácido nalidíxico) con el objeto de inhibir el crecimiento de otros microorganismos. ⁽¹⁴⁾

En medios sólidos forma colonias de unos dos milímetros de diámetro, lisas y rodeadas por un halo de β -hemólisis, aunque existen algunas cepas no hemolíticas. Características de crecimiento: Obtiene energía principal de la utilización de azúcares. ⁽¹⁴⁾

El crecimiento tiende a ser pobre en medios sólidos o líquidos, a menos que sean enriquecidos con sangre y factores de crecimiento y la presencia de una atmósfera con 10% de CO₂. La temperatura óptima de crecimiento es de 35°C – 37°C. ⁽³⁵⁾

S. agalactiae crece en medios simples y medios suplementados con sangre y suero que favorecen su crecimiento. El empleo de medios selectivo favorece la recuperación del estreptococo del grupo B, se emplean Gentamicina, Acido Nalidixico, Colistina o Cristal violeta, como inhibidores. ⁽³⁶⁾

El medio CNA Agar Sangre Columbia con 5% de sangre de carnero suplementado con 15 µg/l Ácido Nalidixico y 8µg/l de Gentamicina, favorece un mejor crecimiento. ⁽³⁶⁾

En 2002, el centro de control de prevención de enfermedades de Atlanta (CDC) actualizo sus recomendaciones para la prevención de la enfermedad perinatal por *S. agalactiae*. ⁽³⁷⁾

Al introducir el medio CHROMagar orientation en la rutina de urocultivos, observamos que las colonias de *S. agalactiae* mostraban una morfología típica (colonias pequeñas de color azul muy claro) y que eran fácilmente distinguibles en cultivos mixtos. ⁽³⁷⁾

El medio granada que es muy usado en hospitales de otros países para la detección e identificación de la bacteria. Este medio posee una sensibilidad análoga para detectar GBS que la técnica de enriquecimiento selectivo, siendo más rápido y simple. En el caso de esta la morfología de las colonias debe ser pigmentadas naranja o rojos.

Otro medio es el CHOROmagar strep B se utiliza para el aislamiento y diferenciación de *S. agalactiae*.⁽³⁸⁾

Este se puede comparar con CNA Blood agar y Granada y tiene un rendimiento medio.

Fácil interpretación: lectura más sencilla gracias a una coloración de colonia malva intensa y sensible.

Alta sensibilidad: detección de GBS, incluidas cepas no hemolíticas, con sensibilidad cercana al 100%

Elevada selectividad: diferenciación del GBS de otras bacterias por inhibición selectiva o por contra coloración.

Rápido: resultados en 18 a 24 horas.

Sencillez: incubación en condiciones aerobias. La confirmación por aglutinación de latex se puede realizar directamente de la colonia.

Las características en este medio son colonias pequeñas y malvas para *S. agalactiae* y otros microorganismos son colonias pequeñas y azul, incoloro o inhibido.⁽³⁸⁾

No obstante, la confirmación de estos resultados preliminares precisa la realización de estudios adicionales.

El medio de Todd-Hewitt suplementado con: colistina (10 ug/ml) + ácido nalidíxico (15ug/ml), es recomendado por el Center for Disease Control and Prevention (CDC) a partir del año 1996 para el procesamiento de muestras genitales en mujeres embarazadas cuando se investiga *S. agalactiae*. En este medio de enriquecimiento selectivo, se logra que la recuperación de *Streptococcus*, presente en dichas muestras, aumente hasta un 50 %, mientras que la flora acompañante es inhibida por los antimicrobianos.⁽³⁹⁾

Este es un caldo que se emplea para la producción de hemolisina estreptocócica y el cultivo de estreptococos para el tiraje serológico. Las peptonas (proveen la fuente de nitrógeno, vitaminas y aminoácidos) y la glucosa son la fuente nutritiva, y estimulan el crecimiento bacteriano. Debido a la fermentación de glucosa se generan productos ácidos, que son neutralizados por fosfato de sodio y carbonato de sodio, evitándose así la destrucción de las hemolisinas. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico del medio. ⁽³⁹⁾

Se ha descrito que el uso del medio de Todd-Hewitt facilita el encapsulamiento de los estreptococos y por lo tanto el aumento de su capacidad de supervivencia. También existen reportes de estudios realizados en los que se ha comprobado cómo la acción hemolítica de los estreptococos betahemolíticos de todos los grupos es fuertemente promovida por los ácidos nucleicos presentes en el extracto de levadura. ⁽³⁹⁾

VIII.2. Coloración gram

Hacer una coloración Gram de las colonias sospechosas y observar al microscopio. método de coloración Gram. Si se observan cocos Gram positivos en cadena, realizar la prueba de la catalasa. ⁽⁴⁰⁾

VIII.3. Prueba de catalasa

Determina la presencia de la enzima catalasa, esta enzima descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. ⁽⁴⁰⁾

Reactivo: Peróxido de hidrógeno al 3%

Procedimiento

- Con el asa de siembra, recoger el centro de una colonia pura de 18 a 24 horas y colocarla sobre un portaobjetos limpio.
- Agregar una gota de H₂O₂ al 3% usando un gotero o una pipeta Pasteur.
- No es necesario mezclar el cultivo con el H₂O₂.

- Observar una inmediata efervescencia (formación de burbujas)

que indica una prueba positiva, de lo contrario se considera

la prueba negativa.

- Desechar el portaobjeto colocándolo en un desinfectante.

Nota: Al coger la colonia con el asa de siembra tener cuidado de no llevar algo del medio de agar sangre debido a que la catalasa presente en los eritrocitos puede dar resultados falsos positivos. ⁽⁴⁰⁾

Seguir los procedimientos descritos en la identificación de *Streptococcus. es catalasa negativa.* ⁽⁴⁰⁾

VIII.4. Prueba de camp

Prueba de CAMP (Christie, Atkins, Munch-Petersen). La prueba de CAMP se utiliza para la identificación presuntiva de *S. agalactiae* (grupo B de Lancefield). En esta prueba se observa un efecto sinérgico que se produce al interactuar el factor CAMP producido por cepas de *S. agalactiae* con la hemolisina β de *Staphylococcus aureus*. ⁽⁴⁰⁾

Ambos son productos extracelulares que difunden en el medio de cultivo para producir dicho efecto en forma de flecha cuando se utilizan placas de agar sangre preparadas con eritrocitos ovinos o bovinos. Una vez inoculados, los medios de cultivo deben ser incubados a 35-37°C por 18-24 horas. Algunos autores recomiendan no incubar las placas de agar sangre para la prueba de CAMP en una atmósfera enriquecida con CO₂ debido a un probable efecto inhibitorio sobre el sinergismo. ⁽⁴⁰⁾

Se puede efectuar una identificación preliminar de una cepa aislada mediante la obtención de resultados positivos en la prueba de CAMP (Christie. Atkins, Munch-Petersen) o mediante la hidrólisis de hipurato. Los estreptococos del grupo B se identifican de forma definitiva al revelar la presencia del hidrato de carbono específico de grupo o bien mediante el uso de sondas moleculares comerciales. ⁽¹⁴⁾

VIII.5. Aglutinación

La interacción de un antígeno particulado con su anticuerpo correspondiente se visualiza por la formación de “aglutinados”. Cuando la partícula aglutinada es el antígeno mismo se habla de una reacción de aglutinación directa o activa. Si el antígeno es soluble y se absorbe física y químicamente sobre una partícula, entonces se habla de una reacción de aglutinación indirecta o pasiva. ⁽⁴¹⁾

VIII.6. Prueba de aglutinación para tipificación

Prueba de aglutinación de látex para la identificación de *Streptococcus* grupos A, B, C, D, F y G. Se demostró que la mayoría de los estreptococos patógenos poseen antígenos específicos de naturaleza hidrocbonatada que permite su clasificación en grupos. Estos antígenos estreptocócicos de grupo, previamente conjugadas con anticuerpos pueden extraerse de las células y ponerse de manifiesto con partículas de látex previamente conjugadas con anticuerpos grupo específicos. Las partículas de látex aglutinarán en presencia de antígeno homólogo, pero permanecerán en suspensión tenue en ausencia de este. ⁽⁴²⁾

El kit de agrupación de estreptococos Oxoid basado en una aglutinación de partículas de látex, utiliza un procedimiento nuevo de extracción enzimática que acorta considerablemente el tiempo requerido para extraer el antígeno incrementando el rendimiento particularmente en lo que se refiere a antígeno de estreptococo Grupo D. ⁽⁴²⁾

VIII.7. Interpretación de resultados

La prueba se considera positiva cuando aparece la aglutinación con uno de los grupos o cuando la reacción de aglutinación es más fuerte que en los otros cinco. La prueba se considera negativa cuando no aparece aglutinación. En algunas ocasiones pueden observarse ligeras trazas de material granular en una reacción negativa deben ser ignorados. ⁽⁴²⁾

VIII.8. Limitaciones

Se pueden dar resultados falsos negativos si se utiliza una cantidad inadecuada de cultivo para su extracción. La mayor parte de todos los estreptococos betahemolíticos aislados de infecciones humanas poseen antígenos hidrocarbonados específicos que pueden ser puestos de manifiesto por reacciones serológicas. ⁽⁴²⁾

Los intentos de aplicar este procedimiento a los estreptococos no betahemolíticos han sido infructuosos excepto para los grupos B, D y N. Los estreptococos pertenecientes al grupo N, no se han encontrado hasta el momento en infecciones humanas. Se ha señalado que el reactivo de látex para el Grupo D puede fallar en la reacción con algunas razas de *S. bovis*, estas razas requerirán otros estudios para su identificación. ⁽⁴²⁾

Cuando se lleva a cabo una identificación serológica de estreptococos deben realizarse algunas observaciones previas tales como. (i) Hemólisis; a,c (ii) Morfología celular; b,c (iii) Pureza y cantidad del crecimiento.

VIII.9. Pruebas moleculares

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el cribado de mujeres gestantes. La sensibilidad y la especificidad de la prueba se acercan a las de los cultivos, por lo que es posible que este ensayo vaya de la mano a los cultivos estándar de los *Streptococcus* pertenecientes, al grupo B. ⁽¹⁴⁾

La serotipificación por PCR en tiempo real representa una alternativa atractiva a los métodos de serotipificación actuales y puede permitir una mejor adquisición de datos de serotipos de GBS. ⁽⁴⁵⁾

Existen diez serotipos conocidos de GBS basados en distintas composiciones de cápsulas (IA, IB, II-X), y las vacunas conjugadas de polisacárido capsular actual candidatas se dirigen sólo a un subconjunto de estos. ⁽⁴⁵⁾

El serotipo de los aislados de GBS es importante para entender la epidemiología local y para el monitoreo del reemplazo de serotipos o la conmutación capsular. Sin embargo, la de serotipos generalmente requiere aglutinación de látex, PCR Multiplex con análisis

de tamaños de banda, o análisis de secuencias de genoma entero todas las técnicas que son costosas o no están ampliamente disponibles. ⁽⁴⁵⁾

En el año 2016 se realizó un estudio en el reino unido y se divulgo el desarrollo de un ensayo en tiempo real robusto de la polimerización en cadena para determinar serotipos de GBS. Utilizando tanto un conjunto de referencias diversas de cepas que abarcan los diez serotipos y una colección de aislados clínicos, que demostrar la concordancia entre el serotipo en tiempo real de PCR y aglutinación de látex. Propusieron que el serotipo de PCR en tiempo real de representa una alternativa atractiva a los métodos actuales de serotipo y puede permitir la adquisición mejorada de los datos de los serotipos de GBS. ⁽⁴⁵⁾

VIII.10. Antibiograma

La identificación y antibiograma mediante los paneles comerciales son métodos precisos y rápidos, pues ofrecen la posibilidad de hacer hasta 30 pruebas bioquímicas para una identificación adecuada y además permite realizar un antibiograma con concentración inhibitoria mínima (CIM), lo cual es muy importante, si se considera que puede tener una alta CIM a la penicilina. ⁽⁴³⁾

El método de Kirby- Bauer es el método mas usado alrededor del mundo por fácil y por tener la posibilidad de evaluar hasta 12 antibióticos a la vez. Se utiliza para conocer el nivel de sensibilidad del microorganismo estudiado. ⁽⁴³⁾

IX. Prevención de la infección

En la actualidad, existen controversias importantes en el mundo acerca de cual es la mejor forma de prevenir los casos de infección neonatal. Al respecto en 1996, el Centro de Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América (Center for Diseases Control – CDC), promocionó y coordinó una política de consenso para la prevención de esta enfermedad, en ella participaron el Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos, la Academia Americana de Pediatría y otras organizaciones profesionales. En aquel momento la tasa de colonización vaginal y/o rectal en las embarazadas americanas oscilaba entre el 10 y el 30% dependiendo de la población

estudiada, con una incidencia global de enfermedad perinatal de 1.8 por mil nacidos vivos. ⁽⁴⁴⁾

Basándose en estos datos recomendaron dos estrategias profilácticas:

La primera basada en la detección vaginal y rectal de *S. agalactiae* en todas las mujeres entre las 35 y 37 semanas de gestación y la administración de antibióticos intraparto a todas las portadoras de la bacteria y a todos los partos prematuros menores de las 37 semanas de gestación.

La segunda basada en la presencia de factores de riesgo obstétrico.

Lo ideal para prevenir la infección neonatal parece ser la combinación de ambos métodos. Si la profilaxis se efectúa utilizando como argumento los factores de riesgo se alcanza una prevención del 69% aproximadamente, mientras que otros refieren que se alcanza solo un 41%, si se utiliza la detección vaginal-anal a las 35-37 semanas de gestación esta prevendría el 78%. ⁽⁴⁴⁾

La Organización Mundial de la salud no recomienda el cultivo a todas las embarazadas, en la última propuesta de modelo de control prenatal del año 2001, sí recomienda el tratamiento antibiótico en las mujeres con factores de riesgo.

En Latinoamérica en general, no se realiza el rastreo universal. En un consenso realizado por el Centro Latino Americano de Perinatología de Montevideo, Uruguay (CLAP, OPS/OMS) se decidió que la estrategia más acertada para la región de Latinoamérica es la profilaxis intraparto a mujeres con los factores de riesgo.

Según las pautas del Centro para el Control y Prevención de las Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos y del Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos, los métodos consisten en: Muestra de los fluidos vaginal y rectal.

X. Tratamiento para mujeres con factores de riesgo:

Consiste en el tratamiento exclusivo de las mujeres con factores de riesgo para ser portadoras y transmitir el GBS a sus bebés. Se las trata con antibióticos por vía intravenosa durante el parto. ⁽⁴⁴⁾

El método de usar antibiótico en las mujeres con resultados positivos es el mejor para prevenir las complicaciones neonatales. ⁽⁴⁴⁾

La eficacia preventiva de la implementación de ambos métodos está probada.

La administración antibiótica al comienzo del trabajo de parto o ruptura de membranas ovulares constaría de:

- Penicilina G sódica: 5 millones de U. I por vía I.V. Seguida de 2.5 millones de UI I.V cada 4 horas hasta el expulsivo.
- Ampicilina (solo si no se dispone de penicilina) 2 gramos I.V. seguido de 1gr I.V. cada 4 horas hasta el expulsivo.

Es preferible la utilización de penicilina, pues la utilización sistemática de ampicilina favorece la aparición de microorganismos resistentes y la sepsis neonatal provocada por los mismos (Sobre todo *Escherichia coli*).

En caso de alergia a los betas - lactámicos, se recomienda utilizar una de las siguientes pautas:

- Eritromicina 500mg. I.V cada 6 horas.
- Clindamicina: 900 MG I.V. cada 8 horas.
- Vancomicina 1gr cada 12 horas IV.

X.1. Situaciones especiales

En aquellas instituciones donde se realiza cultivo vaginal/anal a las embarazadas entre las 35 a 37 semanas de gestación:

Debe medicarse en el momento del parto a aquellas mujeres positivas con el mismo esquema antes descrito.

En caso de que no se hubiera realizado el cultivo, se debe medicar solo a las mujeres que presentan los factores de riesgo

Si una embarazada presenta un cultivo negativo dentro de las últimas cinco semanas previas al parto, no debe ser medicada, aunque presente algún factor de riesgo.

Si una embarazada es positiva, pero se programa una cesárea en ausencia de trabajo de parto y sin rotura de membranas, no debe medicarse. No se debe medicar mujeres cuyo cultivo actual es negativo pero que tuvieron un cultivo positivo en un embarazo anterior y su hijo no fue afectado.

En la actualidad, los investigadores están realizando experimentos con varias vacunas que podría administrarse a la embarazada para prevenir la infección de *S. agalactiae* en las madres y en sus bebés. Los investigadores también tienen como objetivo desarrollar pruebas de análisis más rápidas y de alta precisión que puedan realizarse inmediatamente antes del parto y/o durante el mismo.

Cuando la vacuna esté disponible, estas pruebas le permitirán al médico administrar tratamientos antibióticos sólo a las mujeres que realmente lo requieran, evitando el uso innecesario de los mismos.

XI. Vacunación: estrategias vacunales

El *S. agalactiae* Forma parejas o cadenas cortas y muestra un antígeno común, que permite distinguirlo dentro de la clasificación de Lancefield, como grupo B. Produce beta-hemólisis, aunque un porcentaje pequeño de cepas no producen hemólisis. ⁽⁴⁶⁾

También se puede caracterizar en base a la producción de su polisacárido capsular, el cual expresa en gran cantidad en superficie, en diez estructuras antigénicamente únicas y diferentes. (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX) ⁽⁴⁶⁾

La función de este polisacárido capsular es ayudar a evadir los mecanismos de defensa del hospedador interfiriendo en el aclaramiento fagocítico. ⁽⁴⁶⁾

Este consiste en varias unidades repetidas de monosacáridos como la glucosa, galactosa o n-acetilglucosamina unidos a ácido siálico. Otro importante factor de virulencia es la

producción de hemolisina, que está ligada a la producción de un pigmento característico que actúa formando poros en la célula hospedadora produciendo su lisis. ⁽⁴⁶⁾

Otros factores de virulencia son factores de adhesión y de evasión. Dentro de estos serotipos de GBS, todos pueden causar enfermedad invasiva en niños y en adultos, pero cinco de ellos (Ia, II, III, IV, V) causan la mayoría de los episodios. Existen un porcentaje pequeño de cepas no tipables conociéndose en la actualidad poco de la asociación de estas cepas con la enfermedad invasiva. ⁽⁴⁶⁾

La estrategia de vacunación representaría la manera más segura de prevenir la enfermedad invasiva por GBS. Las vacunas disponibles deben de conferir protección e inducir la producción de anticuerpos funcionalmente activos, siendo principalmente representados por el polisacárido capsular y las proteínas de superficie para este fin, como dianas más importantes. ⁽⁴⁶⁾

Durante el año 2015 la Organización Mundial de la Salud (OMS) identificó GBS como una prioridad en el desarrollo de una vacuna para inmunización maternal ya que la mayor parte de la carga de afectados por esta enfermedad se da en países con escasos recursos. A mediados del año 2016 tuvo lugar la primera reunión internacional de expertos en la que, abordando la situación real del estado de las vacunas frente a EGB, con participantes de la industria farmacéutica, agencias de la salud y autoridades competentes. ⁽⁴⁶⁾

XII. Mecanismo de resistencia de GBS

La primera línea de antimicrobianos para el tratamiento contra las infecciones ocasionadas por GBS en personas se basa en el uso de betalactámicos, de preferencia, penicilina y ampicilina; la segunda línea son los macrólidos, como la eritromicina y la clindamicina, usada especialmente en casos donde los pacientes son alérgicos a la penicilina. Considerando el impacto de esta bacteria en la salud pública, en algunos países como Estados Unidos, Canadá y Argentina se utilizan las terapias profilácticas con penicilina o ampicilina, administrada de manera intravenosa para la prevención de la enfermedad neonatal. ⁽⁵⁵⁾

A pesar de que instituciones como el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) y el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) describen que GBS es susceptible a los betalactámicos, investigaciones recientes han reportado un incremento de las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) para diferentes antimicrobianos, incluyendo penicilinas. ⁽⁵⁵⁾

Así mismo se ha sugerido evitar el uso de macrólidos como eritromicina para el tratamiento de GBS en personas, debido al creciente número de aislamientos reportados como resistentes a este tipo de antimicrobianos. ⁽⁵⁵⁾

Cabe resaltar que recientemente la Organización Mundial de la Salud (OMS), ha advertido que la resistencia antimicrobiana, es uno de los problemas de salud pública que amenaza en mayor medida la salud global, especialmente en personas vulnerables como ancianos, mujeres embarazadas, recién nacidos e inmunocomprometidos. Por tal razón, se hace necesario mejorar la vigilancia y el control de la resistencia antimicrobiana, así como fomentar su conocimiento y sus consecuencias. ⁽⁵⁵⁾

Los mecanismos de resistencia descritos en GBS están relacionados con la alteración del blanco y las bombas de eflujo, determinados por la presencia de algunos genes que codifican para dicha adaptación. Cabe resaltar que existen cepas que a pesar de poseer uno o varios genes que codifican para cierto mecanismo de resistencia antimicrobiana no la expresan fenotípicamente, siendo necesario conocer la presencia del gen y su expresión fenotípica de manera simultánea. ⁽⁵⁵⁾

Los antimicrobianos de la familia de los macrólidos, a pesar de ser la segunda línea de fármacos recomendada para el tratamiento de GBS, han presentado una disminución en su efectividad contra dicho microorganismo. Un ejemplo es la eritromicina, la cual fue reportada en Estados Unidos y Canadá como una alternativa no recomendable para el tratamiento de GBS en pacientes alérgicos a la penicilina. ⁽⁵⁵⁾

En GBS se han identificado los genes *ermA*, *ermTR* y *ermB* como responsables de altos niveles de resistencia a eritromicina y clindamicina, siendo el gen *ermB* más común con relación a la resistencia a eritromicina. ⁽⁵⁵⁾

Las PBPs, son el blanco principal de los betalactámicos, los cuales tienen su efecto inhibitorio enfocado en la acilación de un sitio activo de serina de estas enzimas, lo que resulta en una interrupción de la síntesis de la pared bacteriana y en la muerte celular programada. Los cambios o modificaciones en la estructura de una o más PBPs, por mutaciones o sustitución de secuencias de aminoácidos, afecta la capacidad de unión del antimicrobiano al blanco, lo que interfiere con su efecto inhibitorio. Diversos estudios han reportado que GBS tiene una susceptibilidad del 100% a la penicilina, ampicilina, cefazolina, rifampicina, cloranfenicol y vancomicina. ⁽⁵⁵⁾

Sin embargo, estudios recientes han descrito un aumento de la concentración mínima inhibitoria (MIC) de betalactámicos (penicilina y ampicilina) en aislamientos de GBS, mostrando mediciones superiores a 0,25 µg/mL e incluso 0,5 µg/mL. ⁽⁵⁵⁾

XIII. Diseño metodológico

XIII.1. Tipo de estudio: Descriptivo de corte transversal

XIII.2. Periodo de estudio: agosto 2019 a marzo 2020.

XIII.3. Área de estudio: Centro de Salud Mantica Berio de la ciudad de León.

XIII.4. Población de estudio: Todas las embarazadas con ≥ 35 semanas de gestación que asistieron al centro de salud Mantica Berio de la ciudad de León.

XI.5. Muestra: Fueron 111 embarazadas del centro de salud Mantica Berio.

XI.6. Selección de los individuos: (procedimiento de muestreo)

El muestreo fue no probalístico por conveniencia. Las mujeres embarazadas fueron muestreadas cuando atendieron sus controles pre-natales, en ese momento se les abordó y solicitó su participación. Las muestras vaginales y rectales se tomaron ese mismo día si ellas aceptaban participar en el estudio.

XI.7. Criterio de Inclusión:

Toda embarazada con ≥ 35 semanas de gestación que asistieron al centro de salud en el tiempo del estudio.

XI.8. Criterios de exclusión:

Que hayan ingerido tratamiento antimicrobiano sistémico o tratamiento oral dentro de 15 días previos a la toma de muestra.

XI.9. Unidad de análisis:

Estuvo constituida por un hisopado vaginal y uno anorectal de las 111 mujeres embarazadas con ≥ 35 semanas de gestación que aceptaron y asistieron al Centro de salud Mantica Berio en tiempo antes descrito.

XI.10. Fuente de información:

Se utilizó una ficha epidemiológica que contiene variables con los ítems: datos generales, clínicos y factores de riesgos asociadas a nuestros objetivos de trabajo, dicho llenado se hizo a través de una entrevista directa a las participantes. Esta ficha posteriormente se completo con los datos de los resultados de los cultivos, provenientes del laboratorio de Microbiología de la UNAN León.

XI.11. Consideraciones Éticas

El presente estudio fue sometido al comité de ética para investigaciones biomédicas de la Facultad de Ciencias Médicas, UNAN-León, aprobado bajo Acta No.83 (Ver anexos)

XI.12. Procesamiento de las muestras para identificación de GBS

Una vez las muestras recibidas en el Departamento de Microbiología se procedió a procesarlas, luego de realizado el etiquetado de las fichas.

Estas muestras fueron sembradas directamente en medio de Agar CNA (colisistina y ácido nalidíxico), en una atmósfera enriquecida de CO₂ de 5-10%, y en Agar cromogénico indicado para la búsqueda de *Streptococcus agalactiae*. También, se inoculó el hisopo en caldo de Todd Hewitt durante 24 horas a 37 ° C, y posteriormente fue sembrado en los medios antes mencionados.

Luego transcurridas las 24 horas se procedió a identificar las colonias con las características de ser sospechosa de EGB. Se realizó Tinción de Gram. Si resultaba positiva esta prueba (cocos gram positivos en cadenas), se realizaba una prueba de catalasa y una prueba de CAMP (Factor monosfosfato de adenina cíclica), donde la formación de una zona de hemólisis en forma de flecha indica una prueba positiva. Si esta última era positiva se realizaba el diagnóstico a través de la prueba de Aglutinación en látex para identificación de los serogrupos de estreptococos ABCDEFG. (Lancefield Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England)

Las colonias que dieron positivas para *Streptococcus agalactiae* del grupo B se les realizó antibiograma utilizando el método de difusión en discos Kirby Bauer, recomendado por National Committee of Clinical Laboratory Standards de E.E.U.U utilizando los discos de antibióticos recomendados para esta bacteria como son: Ampicilina, Penicilina G, Eritromicina, Clindamicina, Ceftriaxona, Ciprofloxacina.

Se guardaron en leche descremada a -20 °C las colonias positivas para *Streptococcus agalactiae* 3 copias por cada una de las colonias.

Serotipado de EGB por RT-qPCR

Extracción de ADN

Para la extracción de material genético de las colonias antes identificadas como EGB se empleará el Kit de sangre y tejidos DNeasy®

El kit DNeasy Blood & Tissue, siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente:

Células cultivadas: centrifugar un máximo de 5×10^6 células durante 5 min a $300 \times g$ (190 rpm).

1. Resuspender en 200 μ l de PBS. Añada 20 μ l de proteinasa K. Continúe con el paso 2.
 2. Añada 200 μ l de tampón AL. Mezclar bien con vórtex. Incube las muestras de sangre a 56°C durante 10 minutos.
 3. Agregue 200 μ l de etanol (96–100%). Mezclar bien con vórtex.
 4. Pipetee la mezcla en una columna de centrifugación DNeasy Mini colocada en un tubo de recolección de 2 ml. Centrifugo a $\geq 6000 \times g$ (8000 rpm) durante 1 min. Deseche el tubo colector y de flujo continuo.
 5. Coloque la columna de centrifugado en un nuevo tubo de recogida de 2 ml. Añada 500 μ l de tampón AW1. Centrífugo durante 1 min a $\geq 6000 \times g$. Deseche el tubo colector y de flujo continuo.
 6. Coloque la columna de centrifugado en un nuevo tubo de recogida de 2 ml, agregue 500 μ l de tampón AW2 y centrifugue durante 3 min a $20.000 \times g$ (14.000 rpm). Deseche el tubo colector y de flujo continuo.
 7. Transfiera la columna de centrifugación a un nuevo tubo de microcentrífuga de 1,5 ml o 2 ml.
 8. Eluir el ADN añadiendo 200 μ l de tampón AE al centro de la membrana de la columna de centrifugación.
- Incube durante 1 min a temperatura ambiente ($15\text{--}25^\circ \text{C}$). Centrifugar durante 1 min a $\geq 6000 \times g$.
9. Opcional: repita el paso 8 para aumentar el rendimiento de ADN.

Notas:

Realice todos los pasos de centrifugación a temperatura ambiente (15–25 ° C).

Vuelva a disolver los precipitados en Buffer AL y Buffer ATL.

Agregue etanol a los concentrados Buffer AW1 y Buffer AW2.

Equilibre el tejido congelado o los sedimentos celulares a temperatura ambiente.

Precalente una incubadora a 56 ° C.

Consulte el manual para el tratamiento previo de tejido fijo, insectos, bacterias u otros materiales.

Amplificación de ácidos nucleicos serotipo específico por medio de RT-qPCR

Preparación del MasterMix y preparación del plato.

- La configuración del plato puede variar dependiendo del número de muestras por analizar. Los Controles No Template (NTC) y controles positivos deben ser incluidos en cada corrida.
- En el cuarto blanco, descongele los reactivos y colocarlos en coolrack.
- Mezcle primers y sondas (en partes iguales) con Vortex brevemente.
- Centrifugue brevemente primers y sondas y regréselos al coolrack.
- Determinar el número de reacciones (N) por ensayo. Es necesario hacer reacciones extras para NTC y por error de pipeteo (si el número de muestras incluyendo el control es de 1 a 14, sume 1 reacción, si es mayor de 15 sume 2 reacciones).
- Preparar la mezcla a como se indica.

Tabla 1. Mezcla de Master Mix

COMPONENETES	VOL (μ L) / RXN.
Prime Time Gene Expression	10
Mix Primer F y R	1
Probe	1
Agua libre de nucleasas	7
Volumen total	19

Preparación del plato.

- En el cuarto blanco, mientras mantiene en coolrack el plato para PCR, agregue 24 μ L de la mezcla a todos los pozos que serán utilizados.
- Agregar 1 μ L de agua libre de nucleasas al pozo NTC.
- Cubra la placa mientras se traslada al cuarto para PCR, manteniéndola en el coolrack.
- En el cuarto para PCR, remueva la cubierta y agregue 1 μ L de la muestra de ADN a cada pozo correspondiente.
- Por último, agregue 1 μ L al control positivo al pozo correspondiente.
- Selle el plato con lámina filmina óptica y colóquelo en el equipo de PCR.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	
B	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	
C												
D												
E												
F												
G								CP			NTC	
H												

Figura 2. Llenado de los pozos para cada plato. (NTC: No Template Control, U: Desconocido, CP: Control Positivo.)

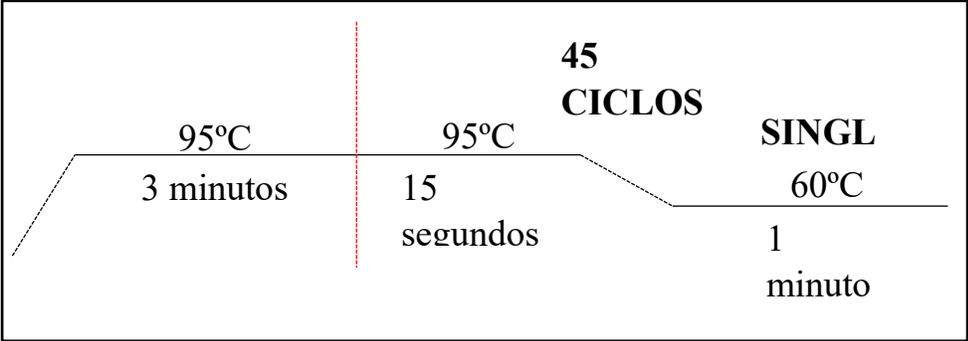


Figura 3. Programa de corrida con parámetros de amplificación.

Las reacciones positivas se definieron con un umbral de ciclo (Cq) ≤35.

Tabla 2. Secuencias de genes diana, cebadores y sondas para la serotipificación de GBS mediante PCR en tiempo real ⁽⁴²⁾

Serotipo	Secuencia (5'-3')	Gen objetivo	Tamaño amplicon
Ia-F	GTTTAAAAATCCTGATTTTGATAGAATTTTAGCAGCTTTTAAC	<i>cpsH</i>	207
Ia-R	CTGATATTTTGAATATTATTATGCAAACAATAATAATATGTTCCCCCTA		
Ia-P	6-FAM-TCGTTGATT/ZEN/ATCGGTATAGTATCATTG GCT-IAbFQ		
Ib-F	GTATTAATTCGTTATTTAGAAGTCCAGAATTTTCATAGAGTCATTGC	<i>cpsH</i>	195
Ib-R	GGCATAATAATATAGAAATCCTAAACAAGACAAAATAATTGCATTA AAC		
Ib-P	6-FAM-TGC ATT CAA/ZEN/TTCACTGGCAGTAGGG- IAbFQ		
II-F	CACATATATATTAAGTTCCACCTAGAGATAACATTGACTACTCTAATC	<i>cpsK</i>	151
II-R	CTAATGCCGTGGAAAAATATGTAATCCCAACATCAAATT		
II-P	6-FAM-AATGCAACA/ZEN/GTAATACAAAGGAACATC CCT- IAbFQ		
III-F	GGAATTGTTCTTTATTTTTCTGCCT	<i>cpsI</i>	170
III-R	ACTATACAAAAGTTGAGAATAATAATAACTCCAATGA		
III-P	6-FAM-ATGTTACAC /ZEN/GCTCTTTGAGGAAATAGATCC- IAbFQ		
IV-F	GAAGAAAATATATATTTGCCATACAGTATATCATCTCCTTATTACAATTATCA	<i>cpsK</i>	159
IV-R	CATAGAATACCTTCTTTATTGGTACGTTTACATAAATCATCAATATTAAC		
IV-P	6-FAM-AGGGAACAG /ZEN/AGGAGATCAATAATTATATTGGC- IAbFQ		
V-F	CAAAATTC AATGAGAGAATGTTGTATTTTTTTGAGGCAATTC	<i>cpsO</i>	153
V-R	CAATCATCTTCCCACATATATCTATTCCACCAAATACTTC		
V-P	6-FAM-ATTTTCCAC /ZEN/ATAATACATCTTAATCTCTGCTG T- IAbFQ		
VI-F	GACAGTCTATTACGAAAGTATAAGAGCGATT	<i>cpsH</i>	219
VI-R	AGCTTG TAGATTATCCTGTTTTGTTTGATAGCTTCTCTATATAG		
VI-P	6-FAM-CCCTCCAGT/ZEN/GTGGGAATATTTTTAGGTTCCAC- IAbFQ		
VII-F	GAGGGCTTACCTCACGACAGGAGAAGTAAAAAATATAAAG	<i>cpsK</i>	160
VII-R	GCTGCGTAAATAACAATACTGACTTTGGAGC		
VII-P	6-FAM-AGTCTTACC/ZEN/CAAGAACAAAAGTCTCTGATT- IAbFQ		
VIII-F	GACTAATGGTTAAGTATGCTA AACTTGCTAATTTGTGATAGTAA	<i>cpsR</i>	152
VIII-R	CTTGTCCTTAAAATTGTGTTTTGACTTTGTCAGATCAGTC		
VIII-P	6-FAM-ATGCTCCTA/ZEN/AAACAACCTACATCGCCTATG- IAbFQ		
IX-F	CATTGAGCAAAGAGAAAACAGTATATGTCAAAGGGC	<i>cpsO</i>	128
IX-R	ATGTTCAAGGATAAAAATCTCTATTATGTTGCATTGCTTCA		
IX-P	6-FAM-AGTACTACC/ZEN/AGACAGTCATACAAAGAGAAT- IAbFQ		

Las secuencias se presentan en dirección 5' a 3' con modificaciones de sonda como se indica (sonda fluorescente de 6-carboxifluoresceína [6-FAM], extintores internos ZENTM y Iowa Black® FQ [IAbFQ]).

XI.13. Análisis de datos

La base de datos se creó en SPSS 21, realizando un primer análisis descriptivo de todas las variables. Las variables cualitativas se describieron mediante una tabla de frecuencias y porcentajes. Las variables cuantitativas se resumieron mediante estadísticos descriptivos básicos: media, desviación estándar (DE), frecuencia (n) y porcentaje (%).

También se presentan datos sobre la prevalencia de colonización rectovaginal de serotipos antibiótico-resistentes de *Streptococcus agalactiae* del grupo B. Luego, se hizo un análisis de probabilidad de riesgo por características sociodemográficas, antecedentes gineco-obstétricos, gestación actual y los resultados de laboratorio. Se compararon los grupos de embarazadas colonizadas y no colonizadas por GBS utilizando la prueba de Chi cuadrado para las variables categóricas, reportando los porcentajes con intervalos de confianza al 95 %. la prueba t de Student para las medias y la prueba de Mann-Whitney U para medianas, tanto por medio de un análisis univariado como multivariado donde se incluyeron todas las variables que resultaron con un $P \leq 0.4$.

Variable dependiente: Presencia o no de la colonización rectovaginal de serotipos antibiótico-resistentes de *Streptococcus agalactiae* del grupo B.

Variable independiente: todas las variables sociodemográficas.

XIV. Operacionalización de variables

Tabla 3. Operacionalización de las variables

VARIABLE	DEFINICION	ESCALA
Edad	Años cumplidos de la paciente al momento de la entrevista	De 17 a 27 años 28 a 40 años
Número de gestas	Cantidad de veces que se ha embarazado	Primigesta Bigesta Multigesta
Número de partos	Cantidad de veces que ha dado a luz	<2 >2
Centro de salud	Lugar donde la paciente se realiza la muestra	Mantica berio
Edad gestacional por ultrasonido	Semanas y días cumplidos por ultrasonido	34 a 36 semanas 37 a 39 semanas
Infección por GBS de niños en embarazos anteriores	Si algunos de sus embarazos anteriores su bebé presento infección por GBS	Si No N/A (primigravida)
Uso de antibióticos	Ha consumido antibióticos los últimos 15 días hasta el día de la entrevista	Si No
Ruptura de membrana prolongada	La participante ha experimentado algunos de estos eventos en su actual embarazo	Si No

Amenaza de aborto	La participante ha experimentado algunos de estos eventos en su actual embarazo	Si No
Amenaza de parto prematuro	La participante ha experimentado algunos de estos eventos en su actual embarazo	Si No
Fiebre >38°c	La participante ha experimentado algunos de estos eventos en su actual embarazo	Si No
Infección de vías urinarias	La participante ha experimentado algunos de estos eventos en su actual embarazo	Si No
Edad gestacional de la infección	La participante ha experimentado algunos de estos eventos en su actual embarazo	<20 semanas >20 semanas
Detección de colonias GBS	Presencia de colonias sospechosas GBS	Si No
Tinción de gram	Presencia de cocos gram positivos	Positivo Negativo
Prueba de catalasa	Presencia de reacción enzimática (efervescencia)	Positivo Negativo
Prueba de CAMP	Presencia de efecto sinérgico que se produce al interactuar el	Positivo

	factor CAMP producido por cepas de <i>Streptococcus agalactiae</i> con la hemolisina β de <i>Staphylococcus aureus</i>	Negativo
Serología de aglutinación	Presencia de partículas de látex aglutinadas en presencia de antígeno homólogo.	Grupo B Otro grupo
sensibilidad penicilina	Rango de CMI de penicilina	Sensible Resistente
sensibilidad ampicilina	Rango de CMI de ampicilina	Sensible Resistente
Sensibilidad vancomicina	Rango de CMI de vancomicina	Sensible Resistente
sensibilidad ceftriaxona	Rango de CMI de ceftriaxona	Sensible Resistente
sensibilidad clindamicina	Rango de CMI de clindamicina	Sensible Resistente
sensibilidad eritromicina	Rango de CMI de eritromicina	Sensible Resistente
serotipo Ia	Colonia GBS con serotipo Ia	Si No
serotipo Ib	Colonia GBS con serotipo Ib	Si No

serotipo II	Colonia GBS con serotipo II	Si
		No
		Si
serotipo III	Colonia GBS con serotipo III	No
serotipo IV	Colonia GBS con serotipo IV	Si
		No
serotipo V	Colonia GBS con serotipo V	Si
		No
serotipo VI	Colonia GBS con serotipo VI	Si
		No
serotipo VIII	Colonia GBS con serotipo VIII	Si
		No
serotipo IX	Colonia GBS con serotipo IX	Si
		No

XV. Resultados

En el presente estudio fueron captadas 111 mujeres entre 35-40 semanas de embarazo del Sector de Salud Mantica Berio, entre Agosto del 2019 a Marzo del 2020. Las características sobresalientes de la población fueron edades promedios jóvenes (27.7 años), un porcentaje alto de primigestas/bigesta (67.7%) y un número considerable de embarazadas que cursaron con una infección de vías urinarias en el presente embarazo (25%). Las gestantes que presentaban la infección se encontraban en las 20 semanas o más de su embarazo principalmente (17%) (Ver Tabla.1).

Tabla 1: Características demográficas, clínicas y epidemiológicas de las embarazadas.

Variable	n (%) x \bar{x} (DS)
Edad de la participante promedio	27.7 (± 0.502)
Semanas de gestación por ultrasonido promedio	35.31 (± 0.288)
Número de partos	
1- 2	27 (24.3)
> 2	13 (11.7)
Número de cesáreas	
≥ 1	23 (20.7)
Número de gestas	
<i>Primigesta/ Bigesta</i>	75 (67.6)
<i>Multigesta</i>	36 (32.4)
Uso de antibiótico embarazo actual	4 (3.6)
Amenaza de aborto	22 (19.5)
Amenaza de parto prematuro	9 (8.0)
Fiebre $>38^{\circ}\text{C}$ embarazo actual	15 (13.3)
Infección de vías urinarias embarazo actual	28 (24.8)
Semanas de gestación de la infección	
<20	9 (8.1)
≥ 20	19 (17.1)

La prevalencia global de colonización fue del 21.6% (24/111). Se obtuvieron 32 aislados de las 24 mujeres colonizadas, donde el 53% provenían de la vagina y 47% del recto.

En un análisis crudo de los factores de riesgos que resultaron significativos para que una mujer embarazada estuviese colonizada solamente se encontró una edad <28 años. (Ver tabla. 2)

Tabla 2. Factores de riesgos para colonización materna (GBS+ n=24)

Variable		Colonizadas	ORc (IC)	P
Edad(años)	17-27	32.8% (19/58)	4.667 (1.601-13.661)	0.005
	28-40	9.4% (5/53)	1	
Edad gestacional (ultrasonido)	34-37	21.8% (22/101)	1.144 (0.220-5.628)	0.896
	38-40	20% (2/10)	1	
Partos	Si	25 % (10/34)	1.357 (0.539-3.419)	0.516
	No	19.7% (14/77)	1	
Número de cesáreas	≥ 1	22.7% (20/32)	1,397 (0.426-4.583)	0.580
	Ninguno	17.4% (4/79)	1	
Número de gestas	Bigestas/ multigestas	22.2% (8/66)	0.949 (0.363-2.480)	0.905
	Primigestas	21.3% (16/45)	1	
Uso de antibiótico	Si	21.5% (1/4)	0.821 (0.082-8.273)	0.867
	No	25% (23/107)	1	
Amenaza de aborto	Si	27.3% (6/22)	0,676 (0,232-1.974)	0.472
	No	20.2% (18/89)	1	
Amenaza de parto prematuro	Si	11.1% (1/9)	2,329 (0,277-19,601)	0.424
	No	22.5% (23/102)	1	
Fiebre >38°C	Si	6.7% (1/15)	1	0.130
	No	24 % (23/96)	4.411(0.550-35.385)	
Infección de vías urinarias	Si	21.4% (6/28)	1	0.977
	No	21.7% (18/83)	0.78 (0.266-2.284)	
Semana de gestación de la infección	<20	22.2% (2/9)	1.071(0.157-7.308)	0.943
	>20	21.1% (4/19)	1	

Igualmente, al realizar análisis ajustado de factores de riesgos donde se incluyó todas aquellas variables que resultaron con $P \leq 0.4$ en el análisis crudo, se confirmó que solamente una edad <28 años estaba asociada a colonización materna. (Ver tabla. 3)

Tabla 3. Análisis multivariado de Factores de riesgos para colonización materna (GBS+ n=24)

Variable	ORc (IC)	ORa (IC)
Edad(años)	4.667 (1.601-13.661)	4.760 (1.611-14.070)
Partos	1.357 (0.539-3.419)	1.396 (0.503-3.878)
Número de cesáreas	1,397 (0.426-4.583)	1.611 (0.475-5.808)
Número de gestas	0.949 (0.363-2.480)	1.260 (0.433 -3.664)

Se logró determinar los serotipos de los 32 aislados positivos, donde el II y el III fueron los más frecuentes encontrados ambos con un (25%). (Ver figura.4)

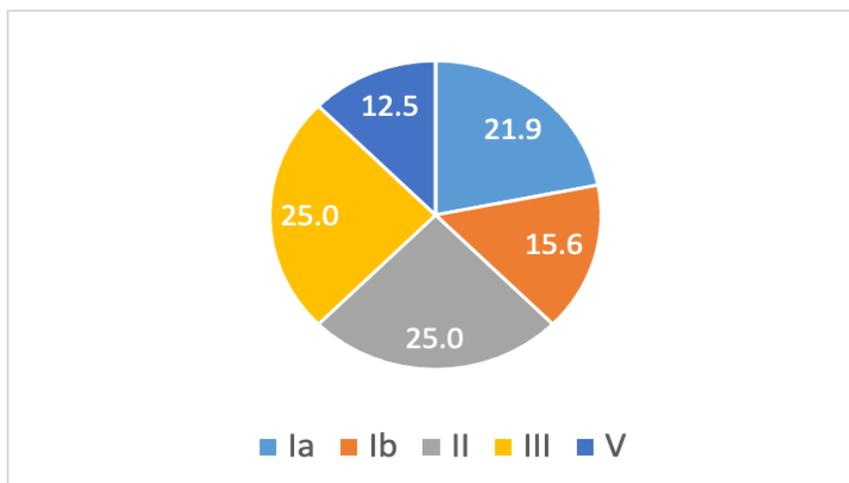


Figura 4. Colonización materna: distribución general de serotipos de GBS

Con respecto a la distribución de serotipos por sitio anatómico todos los serotipos identificados, excepto el serotipo V presentaron frecuencias similares tanto en vagina como recto. (Ver tabla. 4)

Tabla 4. Distribución de serotipos de GBS por sitio anatómico de colonización materna.

Sitio anatómico	N (%)	Ia	Ib	II	III	V
Vagina	17(53)	4(24)	3(18)	4(24)	5(29)	1(5)
Recto	15(47)	3(20)	2(13)	4(27)	3(20)	3(20)
Total	32	7(21.9)	5(15.6)	8(25.0)	8(25.0)	4(12.5)

En los 32 aislados recuperados, se evaluó su patrón de resistencia. De éstas, 11 (34.4%) fueron resistentes a eritromicina, 9 (28.1%) resistentes a penicilina y 6 (19.0%) a clindamicina (Ver tabla 5)

Tabla 5. Colonización materna: Resistencia de serotipos de *Streptococcus agalactiae*.

Antibiótico (n=32)	Resistencia N (%)	Ia	Ib	II	III	V
Clindamicina	6(19.0)			4(66.7)	1(16.7)	1(16.7)
Vancomicina	3(9.0)			1(33.3)	1(33.3)	1(33.3)
Eritromicina	11(34)	3(27.3)		3(27.3)	2(18.2)	3(27.3)
Penicilina	9(28)	1(11.1)	1(11.1)	2(22.2)	3(33.3)	2(22.2)

XVI. Discusión

Uno de los objetivos principales de esta investigación era conocer la prevalencia de mujeres embarazadas colonizadas con *Streptococcus agalactiae* del grupo B, la cual fue del 21.6%. El presente hallazgo difiere un poco con lo reportado en un estudio realizado en el año 2019 en Nicaragua (*Vielot et al*), donde la prevalencia fue del 14%. En terminos generales, se conoce que la colonización materna por *Streptococcus agalactiae* de manera global es del 15%. Cabe recalcar que esta puede variar con respecto al ubicación geográfica y el tiempo de estudio. En Asia por ejemplo se reportan prevalencia entre un 9%-12%, contrario al continente africano hasta un 25%. Esto hecho puede estar relacionado a los factores de riesgo presentes en las poblaciones estudiadas y las cepas circulantes, que pueden influir en la prevalencia de colonización materna. ^(3,5)

Conforme a las características de las mujeres embarazadas nicaragüenses, el Ministerio de Salud reporta que las mujeres entre 20-34 años, tienen un aporte a la fecundidad cercano a los dos tercios (69%), es decir, este grupo etario contribuyen con la mayoría de nacimientos anuales. ⁽⁵⁰⁾ En nuestro estudio las características sobresalientes de las embarazadas fueron edades promedio jóvenes (27.7 años), un porcentaje alto de primigestas/bigesta (67.7%) y un número considerable de embarazadas que cursaron con una infección de vías urinarias en el presente embarazo (25%). Así, se observa que las mujeres embarazadas en el rango de edad de 17 a 27 años, presentaron 4.6 veces mayor probabilidad de estar colonizadas por GBS que las mayores de 27 años. ⁽⁵⁰⁾ Lo cual pudiese estar influenciado también por el alto porcentaje (58.6%) de mujeres bigestas/multigestas en este grupo etario. Los demás factores de riesgos incluidos en nuestro estudio que no fueron significativos, pero no dejan de ser importantes, pues pueden influir de una u otra manera en la colonización materna.

Los serotipos de GBS reconocidos basados en los CPS son 10 (Ia Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII y IX), y la circulación de estos varía alrededor del mundo. Sin embargo, en general los serotipos Ia/Ib (>30%), II (~10%), III (~30%) y V (~25%) son los más prevalentes asociados a colonización materna y enfermedad neonatal a nivel global. ⁽⁴⁹⁾ En

Nicaragua, se desconocían los serotipos circulantes hasta el presente estudio, encontrando la siguiente distribución de serotipos Ia/Ib (37.5%), II (25%), III (25%) y V (12.5%), estos datos son claves pues informan que los serotipos circulantes que dominan la colonización materna son los incluidos en los candidatos vacunales en desarrollo basados en los CPS. Las vacunas proteicas se encuentran en las primeras etapas de desarrollo, pero son muy prometedoras, ya que pueden conferir protección independientemente del serotipo. ⁽⁵¹⁻⁵²⁾

Los resultados obtenidos sobre resistencia antimicrobiana en nuestro estudio muestran que el 34% de los aislados fueron resistentes a eritromicina, 19% a clindamicina y 28% a penicilina, los tres antibióticos de primera opción recomendados en la profilaxis intraparto cuando una mujer embarazada se encuentra colonizada por GBS. En tres de los cinco serotipos (II, III y V) reportados se concentra la resistencia a los antibióticos antes mencionados. Estos hallazgos resaltan la importancia no solo del screening de GBS en la mujer embarazada, sino la valoración del perfil de resistencia del aislado, para un tratamiento profiláctico eficaz que reduzca el riesgo de infección en el recién nacido.

En un estudio realizado en Italia en el año 2020 (*Genovese et al*), reportaron que sus aislados clínicos fueron sensibles a la vancomicina y también se observó resistencia a penicilina, ampicilina, levofloxacina, clindamicina y eritromicina en 6 (0,2%), 5 (0,1%), 161 (4,6%), 1090 (31,2%) y 1402 (40,1%) de las cepas, respectivamente. Los resultados difieren en los obtenidos en nuestro estudio con respecto a la resistencia a penicilina (28%), pero son similares con respecto a la resistencia a clindamicina (19%) y eritromicina (34%). Esto puede ser debido principalmente a la cantidad de gestantes enroladas y al diferente patrón de consumo de antibióticos en ambas poblaciones.

En comparación de los resultados obtenidos en este estudio y uno de hace 10 años atrás en Nicaragua se observa que la resistencia de los antibióticos ha ido en aumento según un estudio realizado en el año 2007 (*Dubon et al*) ellos obtuvieron como resultado que la resistencia de eritromicina fue de un 8% es alarmante para el país y esto tiene que ser considerado para un cambio en la profilaxis empleada en este caso refiriéndonos así a la vacunación. Por eso es de suma importancia que este tipo de estudios sea realicen para que estos sean aportes para que esta vacuna sea eficaz ⁽⁵³⁻⁵⁴⁾

XVII. Conclusiones

- Se logró determinar una prevalencia de colonización recto-vaginal de un 21.6% (24/111), de *Streptococcus agalactiae* del grupo B en las mujeres embarazadas del presente estudio.
- La principal característica de las mujeres colonizadas fue una edad <28 años 32.8% (19/58).
- Se identificaron 5 serotipos de GBS circulantes de los 10 serotipos investigados. Donde, entre los aislados GBS positivos se identificaron los serotipos siguientes: II y III con un 25%, seguido del Ia con un 21.9%, luego Ib con 15.6% y finalmente el serotipo V con un 12.5%.
- También, se logró determinar el patrón de resistencia de los aislados de *Streptococcus agalactiae* del grupo B donde: el 34% fueron resistentes a Eritromicina, 28% a Penicilina, 19% a Clindamicina y 9% a Vancomicina. Siendo los aislados pertenecientes a los serotipos II, III y V, los que presentaron patrones de resistencias variables entre un 16%-66% a todos los antimicrobianos ensayados.

XVIII. Recomendaciones

Considerando la importancia de nuestra investigación y en función de los resultados obtenidos se formulan algunas sugerencias o recomendaciones para futuros estudios siguiendo la misma línea, pero abordando a otros sujetos de estudio y de la mano con investigaciones anteriores.

- Actualmente no se conoce datos epidemiológicos a nivel nacional de: Enfermedad neonatal por GBS, Partos pretérminos por GBS, Muerte intrauterina por GBS Enfermedad materna por GBS.
- En estudios recientes se encontró una asociación entre el anticuerpo CPS específico del serotipo sérico adquirido naturalmente y el riesgo de colonización rectovaginal. La adquisición de GBS se correlacionó inversamente con la concentración de IgG de CPS específica de serotipo (serotipos III y V) y OPA título (serotipos Ia y III). Estos datos sugieren que estrategias como la vacunación de mujeres con GBS Vacuna conjugada CPS-proteína que induce respuestas de anticuerpos podría reducir el riesgo de adquisición rectovaginal de GBS de los serotipos en la vacuna. Sin embargo, el beneficio potencial para las mujeres y sus recién nacidos dependería del momento vacunación en las mujeres y duración de la persistencia de concentraciones de anticuerpos o títulos de OPA suficientemente altos para prevenir adquisición de GBS durante el embarazo. El potencial de las proteínas Vacuna conjugada de polisacáridos para inducir la inmunidad de las mucosas.
- Mientras no contemos con una vacuna la frecuencia de resistencia antimicrobiana debe ser vigilada. Es importante destacar la resistencia a clindamicina y eritromicina ha aumentado significativamente y en este caso se observa que la resistencia a penicilina también va en aumento, como lo han reportado algunos otros autores, lo que nos obliga a tener un manejo más responsable y adecuado

en el uso de antimicrobianos. Este incremento de resistencia aumenta el riesgo de hijos de madres alérgicas a B-lactámicos, de adquirir una infección por *S. agalactiae*.

- Para aminorar esta problemática actual se hace necesario (junto al uso racional de antimicrobianos), solicitar antibiograma en el tamizaje del tercer trimestre del embarazo, en aquellas pacientes con el antecedente de alergia a penicilina, con el fin de disminuir y/o detener el aumento de resistencia y dar un tratamiento efectivo a estas madres. Sin duda, es fundamental para cada institución de salud actualizar con frecuencia sus patrones de susceptibilidad antimicrobiana.

XIX. Bibliografía

1. Campo CH , Martínez MF , Otero JC, Rincón G. Prevalencia de colonización vaginorrectal por *Streptococcus agalactiae* y su perfil de sensibilidad en mujeres embarazadas atendidas en un hospital de tercer nivel. *Biomedica*. 2019 Dec; 39(4): 689–698. Spanish. Published online 2019 Dec 30. doi: 10.7705/biomedica.4514
2. Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2013). *Microbiología médica*. Barcelona, España: ELSEVIER, 7ma Edición.
3. Neal J Russell, Anna C Seale, Megan O'Driscoll, Catherine O'Sullivan, Fiorella Bianchi-Jassir, Juan Gonzalez-Guarin, Joy E Lawn, Carol J Baker, Linda Bartlett, Clare Cutland, Michael G Gravett, Paul T Heath, Kirsty Le Doare, Shabir A Madhi, Craig E Rubens, Stephanie Schrag, Ajoke Sobanjo-ter Meulen, Johan Vekemans, Samir K Saha, Margaret Ip, for the GBS Maternal Colonization Investigator Group. Maternal Colonization With Group B *Streptococcus* and Serotype Distribution Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses.
4. *Clin Infect Dis*. 2017 Nov 15; 65(Suppl 2): S100–S111. Published online 2017 Nov 6. doi: 10.1093/cid/cix658
5. Nadja A. Vielot, Christian E. Toval-Ruíz, Rachel Palmieri Weber, Sylvia Becker-Dreps & Teresa de Jesús Alemán Rivera (2019) Rectovaginal group B streptococcus colonization among pregnant women in Nicaragua: a systematic review and meta-analysis, *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, DOI: 10.1080/14767058.2019.1667324
6. Baker CJ, Edgards MS. Group estreptococcal infections. Eri.Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious diseases of the fetus&newborn*. Infant. 4^a editions. Philadelphia: WB Saunders, 1995; p: 980-1054.
7. Collado ML, Kretschmer RR, Becker I, Guzmán A, Gallardo L, Lepe CM. Colonization of Mexican pregnant women with group B *Streptococcus*. *J Infect Dis* 1981;143-134.
8. Solorzano-Santos, F., G. Echaniz-Aviles, C. J. Conde-Glez, E. CalderonJaimes, J. L. Arrendo-Garcia, and M. Beltran-Zuniga. 1989. Cervicovaginal infection with

- group B streptococci among pregnant Mexican women. *J. Infect. Dis.* 159:1003–1004
9. Solorzano-Santos, F., R. D. Diaz-Ramos, and J. L. Arrendo-Garcia. 1990. Diseases caused by group B Streptococcus in Mexico. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 9:66.
 10. Uh Y, Jang I, Yoon K 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.
 11. Tamariz O. Jesús. Colonización vaginal y anorrectal por Estreptococo del grupo B Universidad peruana Cayetano Heredia, Facultad de Medicina Alberto Hurtado. Lima, Perú. 2004.
 12. Pass MA; Khare S, Dillon HC Jr. Twin pregnancies: incidence of group B streptococcal and disease. *J Pediatr* 1990;97:635-7.
 13. Murray P, Rosenthal K, Pfaüer M. *Microbiologia medica*. 5ta ed. madrid, españa: ELSEVIER; 2007. 243.
 14. Di Bartolomeo S et al. Streptococcus agalactiae en embarazadas. Prevalencia en el Hospital Nacional Alejandro Posadas. *Rev Argent Microbiol* 2005;37:142-144.
 15. Luna H. Estreptococo Beta Hemolítico del Grupo B en Pacientes con Trabajo de Parto Pretermino y su Relación con Corioamnionitis Subclínica y Sepsis Neonatal. Guatemala: Universidad Francisco Marroquín, (tesis de graduación, Facultad de Medicina) 1995. 67p.
 16. Whitnack E. Estreptococos. P. 128-136. (En Schaechter M. et al. *Microbiologia: mecanismo das doenças infecciosas*) Brasil: 2002. 500p.
 17. Cauduro P et al. Agalactiae nom hemolitic: identification by automation. *Rev Bras Patol* 1998;34:102-105.
 18. Costa A. Colonização pelo estreptococos do grupo B em gestantes durante o trabalho de parto em uma maternidade de São Luis, Maranhão. São Luis, Brasil: Universidade Federal do Maranhão, (tesis de post-grado, facultad de Medicina) 2007. 57p.
 19. Hood M, Janney A, Dameron G. Beta hemolytic streptococcus group B associated with problems of perinatal period. *Am J Obstet Gynecol*, 1961;82:809-818

20. Paredes A et al. Nosocomial transmission of group B streptococci in a newborn nursery. *Pediatrics* 1977;59:697.
21. Le Doare K, Heath P. An overview of global GBS epidemiology. *Vaccine*. 2013;31:7-12.
22. Butler M, DeMoor C. Streptococcus agalactiae as a cause of meningitis in the newborn, and of bacteremia in adults. *Antoine Van Leeuwenhoek*. 1967;33:439-450.
23. Centers For Disease Control And Prevention, Atlanta: CDC(Centers For Disease Control And Prevention)(Citado: 21 de mayo de 2019) Disponible en: <https://www.cdc.gov/groupbstrep/index.html>
24. Lenner PI, Gopalakrishna Kv, Wolinsky E, et al. Group B Streptococcus bacteremia in adults: analysis of 32 cases and review of the literature. *Medicine* 1997; 56: 457-73
25. Daugard HO, Thomsen AC, Henriques U, et al. Group B streptococci in the lower urogenital tract and late abortions. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 158:28-31.
26. Gotoff, Samuel P.; Nelson tratado de pediatría, 16ª Edición, Editorial Mc Graw Hill Interamericana, Streptococo del Grupo B, Cap. 185, Pág. 890-895, Volumen I, 2002.
27. Ferreri P, Clearly PP, Seeds AE. Epidemiology of group-B Streptococcal carriage in pregnant women and newborn infants. *J. Med Microbiol* 1997; 10:103-104.
28. Sáez-Llorens, Xavier. Temas de Perinatología, Asociación Latinoamericana de Pediatría, A. C. ALAPE: Sepsis Neonatal. Edit. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, España, 2002.
29. Ocampo M. Sánchez H. Castro A. y cols. Factores asociados a la colonización por Streptococcus del grupo B en mujeres embarazadas de Los Altos, Chiapas. *Salud pública de México*, vol 42, n.5, septiembre-octubre 2000.
30. Carrasco Morales Izayana Dr. Perfil clínico y demográfico de pacientes con patología gineco-obstetricia colonizadas por Streptococo Agalactiae. *GinecolObstet. Mex* 2002; vol.70(10):521-526

31. Faxelius G, Bremme K, Kvist-Christensen K, et al. Neonatal septicemia due to group B streptococci- perinatal risk factors and out come of subsequent pregnancies. J Perinat Med 1988; 16:423-30.
32. Edwards MS, Jackson CV, Baker Cj. Increased risk of group B streptococcal disease in twins JAMA 1991;245:2044-6.
33. Cueto López. Estreptococo del grupo B y embarazo. Inf Ter Sist Nac Salud España 2005; 29: 133-137.
34. Soper DE, Mayhall CG, Dalton HP. Risk factors for intra-amniotic infection: a prospective epidemiologic study. (With discussion). Am J Obstet Gynecol 1999; 161:562-8.
35. Boyer KM, Gadzala CA, Kelly PD, et al. Selective intrapartum chemoprophylaxis of neonatal group B streptococcal early-onset disease. II. Predictive value of prenatal cultures. J infect Dis 1993;148:802-9.
36. Guerrero C. Guillen A. Rojas R. y cols. Streptococcus del grupo B en mujeres gestantes. Universidad Nacional Federico Villareal, Facultad de Tecnología Médica de España.
37. Sabater S, Moreno R, Campos A, Pardo F. Evaluation of chromagar orientation medium for the detection of streptococcus agalactiae in pregnant women. Laboratorio de microbiología, Hospital general de castellón, Castellón, España 2010; Vol.28. Num.8.; 563-564
38. CHROMagar (internet) USA disponible desde: <http://www.chromagar.com/clinical-microbiology-chromagar-strepb-focus-on-streptococcusagalactiae-30.html#.X0q22h6700O>
39. Dauval C. Urdanivia M. Herrera F. Ensayo de un medio de cultivo para conservación y transporte de Streptococcus. Rev. Cubana HigEpidemiol, enero-abril, 2002, vol. 40, no. 1, p.26-30. ISSN 0253-1751.
40. Rojas N. Chavez E. Garcia F. Bacteriología diagnóstica. Universidad de costa rica 2006; 80-81
41. Sacsquispe Contreras, Rosa; Ventura Egúsquiza, Gladis Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias Lima: Ministerio

- de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2001. 105 p. — (Serie de Normas Técnicas; 28)
42. THERMO, S. (2016). Kit de Aglutinación de Streptococcus. Thermo Fisher Scientific Inc.
 43. CRESPO ORTIZ, M., VÉLEZ, J. (1996) “Importancia clínica del streptococcus agalactiae como causante de infección”. Revista Médica de la Universidad del Valle No.2, Vol. 27, (p. 27:53-89)
 44. Tamariz O. Jesús. Colonización vaginal y anorrectal por Estreptococo del grupo B Universidad peruana Cayetano Heredia, Facultad de Medicina Alberto Hurtado. Lima, Perú. 2004.
 45. Breeding, K., Ragipani, B., Lee, KU. *et al.* Real-time PCR-based serotyping of *Streptococcus agalactiae*. *Sci Rep* 6, 38523 (2016).
 46. Puertas-Prieto, A., Lara-Oya, A., Liébana Martos, C., Rodríguez-Granger, J., Cobo, F., Sampedro, A., ... y Rosa-Fraile, M. (2017) . Streptococcus agalactiae: prevención y desarrollo de vacunas. *Revista Española de Quimioterapia*, 30 (5).
 47. Liébana-Martos MDC, Cabrera-Alavargonzalez J, Rodríguez-Granger J, Miranda-Casas C, Sampedro-Martínez A, Gutiérrez-Fernández J, et al. Serotipos y patrones de resistencia antibiótica en aislados beta hemolíticos de Streptococcus agalactiae de madres colonizadas y recién nacidos con enfermedad invasiva. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015;33(2):84–8.
 48. Martínez T MA, Ovalle S A, Durán T C, Reid S I, Urriola J G, Garay G B, Cifuentes D M. Serotipos y susceptibilidad antimicrobiana de Streptococcus agalactiae. *Revista médica de Chile* [Internet]. Mayo de 2004 [consultado el 29 de octubre de 2021];132(5). Disponible en: <https://doi.org/10.4067/s0034-98872004000500003>
 49. C. S. Lachenauer, D. L. Kasper, J. Shimada, Y. Ichiman, H. Ohtsuka, M. Kaku, L. C. Paoletti, P. Ferrieri, L. C. Madoff, Serotypes VI and VIII Predominate among Group B Streptococci Isolated from Pregnant Japanese Women, *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 179, Issue 4, April 1999, Pages 1030–1033, <https://doi.org/10.1086/314666>

50. Ministerio de salud, Gobierno de Nicaragua, (internet). León, Nicaragua: Ministerio de salud (<https://nicaragua.unfpa.org/sites/default/files/pub-pdf/ENDESA-2011-12-completa.pdf>)
51. Seale AC, et al Estimates of the Burden of Group B Streptococcal Disease Worldwide for Pregnant Women, Stillbirths, and Children. *Clin Infect Dis*. 2017 Nov 6;65suppl_2:S200-S219
52. Carreras-Abad C, Ramkhelawon L, Heath PT, Le Doare K. A Vaccine Against Group B *Streptococcus*: Recent Advances. *Infect Drug Resist*. 2020 Apr 29;13:1263-1272. doi: 10.2147/IDR.S203454. PMID: 32425562; PMCID: PMC7196769.
53. Genovese C, D'Angeli F, Di Salvatore V, Tempera G, Nicolosi D. *Streptococcus agalactiae* in pregnant women: serotype and antimicrobial susceptibility patterns over five years in Eastern Sicily (Italy). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020 Dec;39(12):2387-2396. doi: 10.1007/s10096-020-03992-8. Epub 2020 Jul 22. PMID: 32700131; PMCID: PMC7669783.
54. Dubón Méndez N, Altamirano González MDS, Alemán Rivera TDJ. Streptococo del grupo B en mujeres embarazadas atendidas en el Centro de Salud Primero de Mayo. Abril-Agosto 2007. *Univ (León) Rev Cient UNAN León*. 2008;2(2):29–32.
55. Jaramillo-Jaramillo AS, Universidad de Caldas, Cobo-Ángel CG, Moreno-Tolosa Y, Ceballos-Márquez A, Universidad de Caldas, et al. Resistencia antimicrobiana de *Streptococcus agalactiae* de origen humano y bovino. *CES Med Vet Zootec [Internet]*. 2018;13(1):62–79. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.13.1.5>

XX. Anexos

Anexo n°1: Ficha de recolección de datos

Tema: Prevalencia y distribución de serotipos del estreptococo grupo B en León,
Nicaragua

Código Anónimo (asignado por el técnico del laboratorio)		
Fecha de la visita (dd/mm/aa):	Centro de salud (Indique Perla Maria, Mantica Berio, o Sutiaba):	
DATOS CLÍNICOS (Consulte el expediente clínico y confirme la información con la participante)		
1. Edad (años):	2. Edad gestacional por ultrasonido: Semanas:	Días:
3. Número de gestas (incluyendo la gesta actual):	4. Número de partos:	
5. Algunos de sus niños ha tenido infección con EGB confirmada, sepsis o meningitis neonatal	Sí	No N/A (primigravida)
6. Uso de antibióticos orales en los últimos 15 días, por cualquiera razón	Sí	No
La participante ha experimentado en el actual embarazo los siguientes eventos:		
7. Ruptura prolongada de membranas (≥ 18 horas)	Sí	No
8. Amenaza de parto prematuro	Sí	No
9. Amenaza de aborto	Sí	No
10. Fiebre $\geq 38^{\circ}\text{C}$	Sí	No
11a. Infección de vías urinarias	Sí	No
11b. Si responde que "sí", indique la edad gestacional de la infección	< 20 semanas	≥ 20 semanas
La participante ha experimentado en un embarazo anterior los siguientes eventos (Si ella es primigravida, TERMINE)		
12. Ruptura prolongada de membranas (≥ 18 horas)	Sí	No
13. Amenaza de parto prematuro	Sí	No
14. Aborto o amenaza de aborto	Sí	No
15. Fiebre $\geq 38^{\circ}\text{C}$	Sí	No
16a. Infección de vías urinarias	Sí	No
16b. Si responde que "sí", indique la edad gestacional de la infección	< 20 semanas	≥ 20 semanas

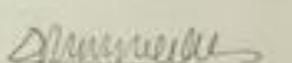
Anexo n°2: Acta aprobada por comité de ética

14 Feb 2019

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua
Facultad de Ciencias Médicas
UNAN - León

Comité de Ética para Investigaciones Biomédicas (CEIB)
"Dr. Uriel Guerra Guerrero"
FWA00004523 / IRB00003342

León, 6 de Febrero 2019

<p>Miembros Fundadores Dr. Uriel Guerra Guerrero Médico Patólogo Dr. Jaime González Solís Médico y Serenador Dra. Nubia Pacheco Solís Médica y Terapeuta</p> <p>Comité Ejecutivo Dra. Nubia Pacheco Solís Presidenta Dr. Elías Castellón C. Vice - Presidente Dr. Orlando Morales M. Secretario</p> <p>Miembros alternos Dr. Jorge Alemán Pineda M.D. Inés Rumano S. Dr. William Ugalde</p> <p>Fundado en la Facultad de Ciencias Médicas UNAN - León Abril de 1988 Tel. 2311-4875</p> <p>Expiración: 06/06/2023 ID:00002790</p>	<p style="text-align: center;">ACTA No. 83</p> <p>Dra. Teresa Alemán Rivera Investigadora S.D.</p> <p>Estimada Dra. Alemán:</p> <p>El CEIB le comunica que ha recibido su trabajo de investigación, para que sea evaluado por este Comité, titulado: "Prevalence and serotype distribution of Group B Streptococcus in León, Nicaragua". Al respecto se le notifica que se aprueba dicho trabajo porque consideramos que se ajusta a las buenas prácticas clínicas, cumple con la Declaración de Helsinki y la Ley General de Salud vigente del país.</p> <p>Como Comité de Ética, valoramos muy positivamente la importancia de este trabajo sobre este tema que será de utilidad, no quedando plasmado sólo en recomendaciones. Copia de esta carta debe estar presente en el Protocolo e Informe final.</p> <p>En otro particular, nos es grato suscribirnos.</p> <p>Atentamente,</p> <p> DRA. NUBIA A. PACHECO SOLÍS Presidenta del CEIB Facultad de CC. MM.</p> <p> DR. ORLANDO MORALES Secretario del CEIB Facultad de CC. MM.</p> <p> DRA. MERCEDES CERES, PhD YOLANDA Ceres Facultad de CC MM</p> <p> COMITÉ DE ÉTICA PARA INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS LEÓN NICARAGUA CEIB</p> <p>Cc: Archivo</p> <p style="text-align: center;">A la libertad por la Universidad</p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Anexo n°3: Hoja de Consentimiento

Universidad de Carolina del Norte en Chapel Hill (UNC-CH)

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León (UNAN-León)

Consentimiento para participar en un estudio de investigación

Consentimiento de adultos

Fecha de la version del formulario de consentimiento: 10 abril, 2019

Número de IRB: # 18-1691; UNAN-León: Acta No. 83

Anexo n°4: Flujograma de procedimientos

