



UNIVERSIDAD DE CUENCA

RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la prevalencia y sensibilidad antibiótica de *Streptococo del grupo B, Streptococcus agalactiae* (SGB) en mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación que acuden a la consulta prenatal de la Fundación Pablo Jaramillo Crespo. El diseño de la investigación fue descriptivo de corte transversal, realizado de septiembre de 2011 a enero de 2012 e incluyó un total de 100 mujeres embarazadas, a quienes se tomaron muestras de secreción vaginal e hisopado ano rectal. Estas muestras fueron colocadas en un medio de caldo selectivo suplementado con antibiótico, para un posterior cultivo en placas de agar sangre de cordero al 5%. La identificación de SGB se efectuó mediante las pruebas de CAMP y aglutinación en látex, y las pruebas de susceptibilidad antibiótica por la técnica de Kirby Bauer.

El análisis se realizó mediante una prueba de hipótesis para proporciones, en tanto que factores asociados a la colonización se desarrollaron a partir de un análisis descriptivo. No se encontró asociación con edad materna, número de gestas, nivel de instrucción o lugar de residencia. La frecuencia de SGB encontrada fue del 6% con un índice de confianza del 95%. Las mujeres con mayor probabilidad de colonización fueron las pacientes menores de 26 años, con tres o más gestas y residentes en zonas rurales con un porcentaje del 50%. Otros microorganismos hallados fueron *G. vaginalis* 22%, *C. albicans* 16%, y *S. aureus* 2%. Frente a los antibióticos de elección las cepas recuperadas de SGB resultaron con una sensibilidad de 100% para la penicilina, 83,33% a eritromicina y 50% a clindamicina. Los resultados obtenidos exponen la necesidad de realizar trabajos de investigación que identifiquen la magnitud del problema en la ciudad de Cuenca a fin de orientar la implementación de las medidas preventivas oportunas y necesarias.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Palabras claves: SGB, secreción vaginal, hisopado ano rectal, gestantes, 35 a 37 semanas, prevalencia, Todd Hewitt, Ecuador

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
1. MARCO TEÓRICO	
1.1 FUNDAMENTOS GINECOLÓGICOS	3
1.1.1 GENERALIDADES DEL APARATO GENITAL FEMENINO	3
1.1.2 EMBARAZO.....	6
1.1.3 INFECCIONES EN EL EMBARAZO	9
1.1.4 SECRECIÓN VAGINAL	12
1.1.5 FLORA MICROBIANA NORMAL DE LA VAGINA	14
1.2 ESTREPTOCOCOS	15
1.2.1 GENERALIDADES	15
1.2.1.1 Morfología e identificación.....	15
1.2.1.2 Estructura antigénica.....	16
1.2.1.3 Clasificación	17
1.2.2 <i>ESTREPTOCOCO GRUPO B</i>	20
1.2.2.1 Fisiología y estructura	20
1.2.2.2 Identificación	20
1.2.2.3 Clasificación serológica.....	21
1.2.2.4 Factores de virulencia	21
1.2.2.5 Patogenia	22
1.2.2.6 Manifestaciones clínicas	24
1.2.2.7 Diagnóstico de laboratorio.....	25
1.2.2.8 Epidemiología.....	26
1.2.2.9 Tratamiento	29
1.2.2.10 Prevención	29
2. MATERIALES Y MÉTODOS	
2.1 LOCALIZACIÓN	31
2.2 RECURSOS	31
2.2.1 Recursos humanos	31
2.2.2 Recursos institucionales	32
2.2.3 Recursos materiales	32
2.3 UNIVERSO.....	32
2.4 MUESTRA.....	32
2.5 VARIABLES	33
2.6 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	33
2.7 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA	33
2.8 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	38
2.9 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	38
2.10 MANEJO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS	38
2.11 ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES.....	39



3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
3.1 DATOS OBTENIDOS.....	40
3.2 RESULTADOS OBTENIDOS	41
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
4.1 CONCLUSIONES.....	54
4.2 RECOMENDACIONES	55
BIBLIOGRAFÍA.....	56
ANEXOS.....	61
GLOSARIO	96

UNIVERSIDAD DE CUENCA



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, JENNIFER YADIRA CHACÓN VÉLEZ, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Jennifer Yadira Chacón Vélez
140074735-6



Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, SILVIA MARCELA MORENO YANES, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Silvia Marcela Moreno Yanes
010444927-7



Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjby@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador

JENNIFER CHACÓN VÉLEZ
MARCELA MORENO YANES



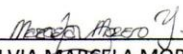
UNIVERSIDAD DE CUENCA



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, SILVIA MARCELA MORENO YANES, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.


SILVIA MARCELA MORENO YANES
010444927-7



Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador

JENNIFER CHACÓN VÉLEZ
MARCELA MORENO YANES



UNIVERSIDAD DE CUENCA



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, JENNIFER YADIRA CHACÓN VÉLEZ, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.


 JENNIFER YADIRA CHACÓN VÉLEZ
 140074735-6



Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador

JENNIFER CHACÓN VÉLEZ
 MARCELA MORENO YANES



UNIVERSIDAD DE CUENCA



UNIVERSIDAD DE CUENCA
desde 1867

UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

“DETERMINACIÓN DE *ESTREPTOCOCO BETA HEMOLÍTICO DEL GRUPO B* EN MUJERES EMBARAZADAS DE 35 A 37 SEMANAS EN LA FUNDACIÓN PABLO JARAMILLO CRESPO”

**TESIS PREVIA A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE BIOQUÍMICA
FARMACÉUTICA**

AUTORAS:

Jennifer Chacón Vélez
Marcela Moreno Yanes

DIRECTORA:

Dra. Lourdes Jerves Msc.

ASESORES:

Dra. Luz María Samaniego
Dr. German Flores

CUENCA – ECUADOR

2012

JENNIFER CHACÓN VÉLEZ
MARCELA MORENO YANES



UNIVERSIDAD DE CUENCA

DEDICATORIA

Dedico esta Tesis en primer lugar a DIOS quien me ha dado la vida y ha estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar.

A mis padres, RAFAEL y ROSARIO, quienes han sido mi apoyo en todo momento, depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad. Sin ellos, jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora. Su tenacidad y constancia representa un gran ejemplo a seguir y destacar, no solo para mí, sino para mis hermanos y familia en general.

A mis hermanos KATHERINE y MARLON, por respaldarme en todo momento.

A mi novio PAÚL, por su amor, amistad y apoyo incondicional.

A mis amigas, amigos y familiares que siempre me motivaron a seguir adelante sin importar los obstáculos que se presenten a lo largo de mi camino.

Jennifer

Dedico este trabajo realizado con mucho esfuerzo, a todos mis seres queridos y a todas aquellas personas que de una u otra manera me han ayudado a lo largo de la vida. Con todo mi amor para ustedes.

Marcela



UNIVERSIDAD DE CUENCA

AGRADECIMIENTO

La presente Tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas e instituciones facilitando las cosas para que este trabajo llegue a un feliz término. Por ello es muy grato para nosotras utilizar este espacio y expresarles nuestro agradecimiento.

Principalmente a nuestros Padres por la confianza y el apoyo tanto moral y económico brindado para poder llevar a cabo esta investigación.

Agradecemos de manera muy especial y sincera a la Dra. Lourdes Jerves nuestra Directora de Tesis por su apoyo y confianza en nuestro trabajo. Gracias por su paciencia y sus consejos que de seguro nos serán muy útiles toda la vida.

Expresamos también nuestro agradecimiento a la Dra. Luz María Samaniego y al Dr. Germán Flores por su oportuna participación para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de la tesis.

Debemos agradecer de manera especial al Dr. Marcelo Aguilar, Director de la Fundación Pablo Jaramillo Crespo por permitirnos desarrollar este trabajo de investigación en esta Casa de Salud y a todos los médicos ginecólogos que colaboraron de manera desinteresada con la investigación.

De igual forma agradecemos al personal del Laboratorio de Atención al Público de la Universidad de Cuenca, por facilitarnos el uso de sus instalaciones y por su colaboración y valiosos aportes realizados durante el desarrollo de este trabajo.

Una gratitud especial para la Dra. Jéssica Sarmiento, por su paciencia y disponibilidad incondicional en las diferentes inquietudes surgidas durante

JENNIFER CHACÓN VÉLEZ
MARCELA MORENO YANES



UNIVERSIDAD DE CUENCA

el desarrollo de esta investigación y sobre todo por permitirnos el uso de su laboratorio.

Un agradecimiento muy especial y sincero va para todos los docentes de la escuela de Bioquímica y Farmacia de la Universidad de Cuenca, por su paciencia y generosidad para compartir su experiencia y amplio conocimiento y hacer de nosotros unos seres humanos y profesionales calidad.

Vaya también un sincero agradecimiento para nuestros amigos, compañeros y demás personas que de una u otra manera contribuyeron para que este trabajo concluya exitosamente.

LAS AUTORAS

JENNIFER CHACÓN VÉLEZ
MARCELA MORENO YANES



UNIVERSIDAD DE CUENCA

INTRODUCCIÓN

La importancia del control prenatal y el riesgo elevado que representa para el recién nacido la colonización vaginal materna por SGB constituye la principal causa de infección neonatal.

El SGB es un coco gram positivo que fue aislado por primera vez en la década de los 30 por Rebecca Lancefield en cultivos vaginales de mujeres postparto. Forma parte de la flora habitual de vagina y tracto gastrointestinal de muchas mujeres adultas y se puede transmitir al recién nacido durante el parto o a través del útero por vía ascendente. (1)

De acuerdo a datos obtenidos de diferentes comunidades científicas de América, del 10 al 20% del total de mujeres embarazadas son portadoras de SGB en el tracto genital inferior, región ano rectal y vías urinarias. La tasa de colonización al feto durante el parto es del 40 al 72% cuando la madre presenta cultivos positivos. De los recién nacidos de madres colonizadas sólo el 1 al 2% desarrollará enfermedad invasiva de origen precoz, con una mortalidad neonatal del 50% y cerca del 10% en la enfermedad de comienzo tardío.

La colonización e infección a neonatos se asocia con sepsis, neumonía, meningitis, artritis séptica, osteomielitis y en las madres portadoras de SGB es causa de aproximadamente un 20% de las endometritis postparto. (2)

A partir de 1996 el Centro de Control y prevención de Enfermedades (CDC) promocionó y coordinó una política de consenso para la prevención de enfermedades en neonatos en la cual se recomendaba una estrategia profiláctica basada en la detección vaginal y rectal de SGB en todas las mujeres entre las 35 y 37 semanas de gestación y la administración de antibióticos intraparto a todas las portadoras de la



UNIVERSIDAD DE CUENCA

bacteria y a todos los partos prematuros menores de las 37 semanas de gestación, con lo cual se prevenía el 78% de las sepsis tempranas.

Considerando la importancia del SGB en infecciones en neonatos y puérperas y la ausencia de información sobre su prevalencia en la Fundación Pablo Jaramillo Crespo de la ciudad de Cuenca, se realizó este estudio con el objetivo de determinar la prevalencia y sensibilidad antibiótica de mencionado microorganismo tanto en secreción vaginal como en hisopado ano rectal, en mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación que acudieron a la consulta prenatal a este Centro de Salud.

No obstante, debe señalarse que existen algunos factores que pueden afectar la estimación de la tasa de colonización por SGB, citando entre ellos la edad, número de gestas, nivel de instrucción y lugar de residencia, que podrían asociarse con mayor prevalencia.



CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 FUNDAMENTOS GINECOLÓGICOS

Es conveniente recordar la anatomía y fisiología del aparato reproductor femenino en sus aspectos fundamentales para conseguir dilucidar apropiadamente los procesos fisiológicos y las alteraciones que se presentan más frecuentemente. (3)

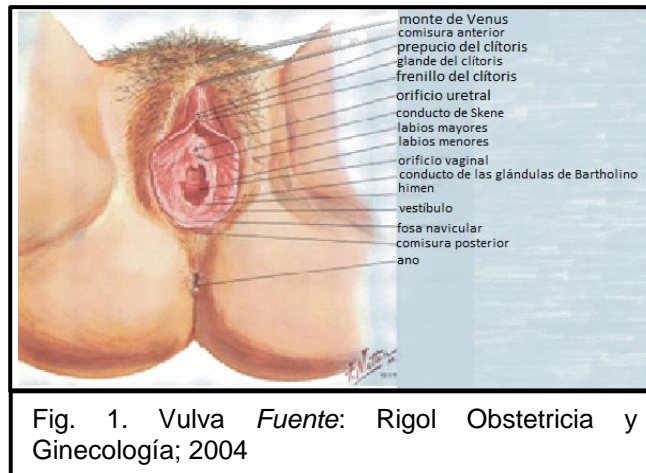
1.1.1 GENERALIDADES DEL APARATO GENITAL FEMENINO

El aparato reproductor se divide para su estudio en 3 partes, que son: los genitales externos, los internos y las glándulas mamarias. (4)

Genitales Externos

Los genitales externos femeninos se conocen conjuntamente como vulva, que es una abertura en el centro de la región perineal la cual se extiende desde el pubis hasta el perineo (Fig. 1). Comprende el monte de Venus, los labios mayores y menores, el clítoris, el vestíbulo de la vagina, el meato uretral y estructuras vasculoglandulares. (5)

UNIVERSIDAD DE CUENCA



Monte de Venus: es una prominencia adiposa situada por encima de la sínfisis del pubis. Después de la pubertad el monte de Venus se cubre de vello grueso, que se desarrolla y se distribuye con características propias de la mujer. (4) (6)

Labios mayores: de color rosado, liso, apenas con vello. Son dos pliegues redondeados de tejido adiposo cubiertos de piel que se extienden a partir del monte de Venus y hacia atrás a ambos lados de la hendidura vaginal. (5) (6)

Labios menores o ninfas: constituyen dos pliegues cutáneos ubicados por dentro de los labios mayores; encierran el vestíbulo de la vagina y se encuentran a cada lado del orificio vaginal. (5)

Órganos eréctiles: incluyen el clítoris, los bulbos vestibulares y las estructuras semieréctiles de los labios mayores y menores.

El clítoris es un órgano eréctil situado en el borde inferior de la sínfisis del pubis el cual posee múltiples terminaciones nerviosas, por lo que es un órgano muy sensible. (4) (6)

Bulbos vestibulares: son dos pequeñas asociaciones de tejido vascular eréctil que descansan en cada uno de los lados de la entrada de la



UNIVERSIDAD DE CUENCA

vagina, por dentro de los labios mayores y menores. Las estructuras glandulares incluyen las glándulas parauretrales (Skene), las glándulas de Bartholino y glándulas vestibulares menores (sebáceas y sudoríparas). (6)

Introito vaginal u orificio vaginal: ocupa cerca de las dos terceras partes del vestíbulo, dentro de los labios menores.

Meato urinario: es un pequeño orificio situado por debajo del clítoris, en la parte interior del vestíbulo. (7)

Genitales Internos

Están formados por el útero, la vagina, los ovarios, las trompas de Falopio, todos ellos relacionados con el resto de las vísceras de la pelvis menor (colon, vejiga urinaria y uretra). (4)

El útero es un órgano muscular hueco, de paredes gruesas situado en el centro de la excavación pelviana entre la vejiga y el recto, cuya misión más importante es la de albergar el huevo fecundado durante toda la gestación. Se compone de cuerpo y cuello uterino, separados entre sí por el istmo uterino. El cuerpo uterino presenta una forma similar a una pera; su cavidad es triangular comunicándose, en su extremidad superior con las trompas, y en su extremidad inferior (a través del istmo) con el cuello uterino. El cuello uterino o cérvix es de forma cilíndrica. (4) (8) (9)

Las trompas uterinas o de Falopio comunican las cavidades uterina y peritoneal; se extienden lateralmente desde las astas uterinas. La trompa uterina se divide en cuatro regiones: el segmento intersticial, el istmo, la ampolla y el pabellón tubárico. Las trompas transportan los ovocitos de los ovarios y los espermatozoides que entran desde el útero para alcanzar el lugar de la fecundación en la ampolla de la trompa uterina. (4) (9)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

La vagina es un conducto cilíndrico musculoso y membranoso, aplanado en sentido anteroposterior, que une la vulva con el cuello. Se halla situado entre la vejiga y el recto. Sirve de comunicación entre el útero y el exterior por lo que permite la salida del flujo menstrual y del producto de la gestación en el parto. (5) (6)

Los ovarios tienen forma de una almendra ligeramente aplanada. Son de color blanco rosado, casi nacarado; producen los ovocitos y están situados cerca de las paredes laterales de la pelvis, a cada lado del útero, producen estrógenos y progesterona, las hormonas responsables del desarrollo y de las características sexuales secundarias y de la regulación del embarazo. (5) (10)

Glándula Mamaria

Es una glándula exocrina cuyo tamaño y forma varían de una mujer a otra e incluso en la misma mujer en las distintas épocas de su vida.

En la mujer adulta adopta la forma de una eminencia semiesférica con su parte plana ajustada a la pared torácica y situada a ambos lados de la región esternal, ocupando longitudinalmente el intervalo comprendido entre la segunda a la séptima costilla y lateralmente desde la línea paraesternal hasta la línea axilar anterior.

En la porción más prominente de su cara convexa, se encuentra una eminencia de aspecto papilar, el pezón, de superficie rugosa y con pequeñas depresiones que constituyen la zona de desembocadura de 12 a 20 conductos galactóforos. El pezón aparece rodeado por la areola que presenta un aspecto rugoso con múltiples prominencias correspondientes a glándulas sebáceas denominadas tubérculos de Morgagni. (4)

1.1.2 EMBARAZO



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Durante todos los años de fertilidad (desde la primera menstruación o menarquia hasta la menopausia) los ovarios liberan aproximadamente un óvulo por mes. Cada óvulo liberado sigue un camino fijo: sale del ovario, recorre la trompa de Falopio y, si no es fecundado, ingresa al útero y es expulsado (junto a otros tejidos) con el periodo menstrual de ese mes. Contrariamente, cuando el óvulo se encuentra en la trompa de Falopio es fecundado por un espermatozoide, da comienzo al embarazo. (11)

Evolución del embarazo en cada trimestre

Primer Trimestre

Este periodo inicial es el característico de las náuseas y vómitos, especialmente los matinales. El cuerpo sufre una serie de modificaciones en pos de albergar y alimentar un bebé en crecimiento, tales como ausencia del periodo menstrual, pesadez y mayor sensibilidad en los pechos, cansancio y aumento de las secreciones vaginales.

En esta primera fase comienza a formarse la placenta y el cordón umbilical, el líquido amniótico protege al bebé y lo mantiene a una temperatura constante. Durante las primeras cuatro semanas el bebé que se está desarrollando se conoce con el nombre de huevo o cigoto, luego de ocho semanas recibe el nombre de embrión.

Al final de este período, el embrión ya es considerado un feto y mide alrededor de 8 cm de longitud, se han desarrollado el cerebro, brazos, piernas y órganos internos; los órganos genitales pueden ser visibles. La placenta aunque pequeña ya está completa y cumple con funciones de nutrición y limpieza. (11) (12) (13)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Segundo Trimestre

Suele ser la etapa más placentera del embarazo. Las náuseas y los vómitos que caracterizan al trimestre anterior desaparecen. Pero otros problemas digestivos, como la acidez y el estreñimiento, pueden provocar molestias. El feto está rodeado de una sustancia cremosa (lanugo) que protegerá la piel del niño todo el tiempo que permanezca en contacto con el líquido amniótico.

La placenta está completamente desarrollada, cumple funciones nutricionales, respiratorias, excretorias y endócrinas. Al término de este trimestre el feto mide aproximadamente 19 cm de longitud, los genitales adquieren sus características sexuales según el sexo. La médula ósea comienza a producir células sanguíneas y se forman las papilas gustativas.

Entre el cuarto y quinto mes la madre comenzará a sentir los movimientos del bebé y a partir del sexto mes será notorio su embarazo. (11) (12) (13)

Tercer Trimestre

El feto cada vez más grande ejerce mayor presión en el cuerpo de la mujer embarazada. Son evidentes ciertos síntomas como fatiga, problemas para dormir y contener la orina, dificultad para respirar, presencia de várices y estrías.

En esta etapa los pulmones comienzan a secretar una sustancia llamada surfactante, que facilitará la expansión de los mismos cuando el bebé comience a respirar, sus cinco sentidos ya son completamente funcionales, y está desarrollando inmunidad para combatir infecciones leves. Los párpados se abren y cierran, aparecen las uñas en los dedos de las manos y los pies. Desaparece casi por completo el lanugo y



UNIVERSIDAD DE CUENCA

comienza a distribuir grasa en codos y rodillas y a formarse pliegues en cuello y muñecas.

A finales del embarazo, el útero se ha expandido desde la pelvis hasta la parte inferior de la caja torácica. El cuello del útero comenzará a abrirse y dilatarse para prepararse para el parto. Esto puede suceder unas pocas semanas antes del parto o podría empezar cuando una mujer entra en trabajo de parto. La mujer puede sentir dolores punzantes en la vagina a medida que el cuello del útero se dilata.

Luego de dar a luz al recién nacido, la placenta y otros tejidos también salen del cuerpo de la mujer. Esto se denomina "alumbramiento". (11) (12) (13)

1.1.3 INFECCIONES EN EL EMBARAZO

Para realizar un estudio apropiado de los procesos transmisibles se requiere conocer la fuente de la infección y las vías de propagación de los microorganismos en la paciente a la cual colonizan y/o causan enfermedad.

Los mecanismos de transmisión de la infección pueden ser horizontales (por contacto, por vía respiratoria, vía digestiva) y verticales, en los que se da el paso de los agentes microbianos de la madre al hijo, a través de células germinales, de la placenta, de la leche o por contacto directo.

Las infecciones de transmisión vertical generalmente cursan de forma asintomática, o con muy pocas manifestaciones clínicas en la madre, por lo que en ocasiones pasan desapercibidas. Estas pueden producirse antes del nacimiento (congénitas), durante el parto (perinatales) y después del parto (neonatales).

En la mayoría de los casos, la infección intrauterina es el resultado de una infección materna, manifiesta o subclínica, con transmisión al feto a través de la placenta. Para que el feto se infecte la madre tiene que sufrir una diseminación hematológica del agente infeccioso para que éste pueda llegar a la placenta y alcanzar al embrión o al feto. La infección adquirida en el útero puede desencadenar en un aborto, malformación congénita, parto prematuro, o incluso enfermedades agudas o tardías en el recién nacido. En estos casos la transmisión vertical materno-fetal de la infección se produce por vía transplacentaria.

Si la infección se produce en el momento de la gestación afecta en gran manera al resultado de la misma. Las infecciones que ocurren en el primer trimestre suelen condicionar alteraciones en la embriogénesis y las consiguientes malformaciones congénitas. Cuando se produce en el tercer trimestre a menudo tienen como consecuencia una infección activa en el recién nacido; sin embargo, en estos casos también pueden retrasarse las manifestaciones clínicas de la infección y manifestarse las lesiones tardíamente.

Las infecciones perinatales se contraen inmediatamente antes del parto o durante el mismo ya sea por vía transplacentaria, por vía ascendente, por migración de microorganismos desde la vagina hacia el líquido amniótico a través del cérvix o por contacto directo con la sangre o con las secreciones maternas durante su paso por el canal del parto.

El recién nacido también puede contraer la infección en el periodo neonatal, bien por transmisión vertical (a través de la leche materna), o bien por transmisión horizontal (infecciones nosocomiales). (4)

Infecciones microbianas más frecuentes

Algunos de los microorganismos a considerar en el embarazo son: *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*), *Trichomona vaginalis* (*T. vaginalis*) y *Candida albicans* (*C. albicans*). Se aíslan otras bacterias relacionadas con el trabajo de parto antes de término y ruptura prematura de membranas, e incluyen *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*), *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*) y *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*).

Candidiasis: Producida por *C. albicans*. Esta infección no es considerada una enfermedad de transmisión sexual. Los factores predisponentes asociados incluyen inmunosupresión, diabetes, embarazo, terapia antibiótica de amplio espectro, obesidad, entre otros. El síntoma predominante es el prurito acompañado de irritación vaginal. El exudado vaginal es blanco y espeso sin ningún olor.

Tricomonirosis: Causada por *T. vaginalis*. Es una infección de transmisión sexual, con frecuencia coexiste con otros microorganismos patógenos que también se transmiten por vía sexual, especialmente con *N. gonorrhoeae*. Las manifestaciones más comunes incluyen un exudado vaginal espumoso, mal oliente y de color gris, blanco o amarillo verdoso; puede existir eritema o edema de la vulva y vagina; en algunos casos esta infección es asintomática.

Vaginosis bacteriana (VB): No hay un único agente infeccioso, sino un cambio en la composición de la flora vaginal normal provocada por un sobrecrecimiento de bacterias anaerobias como *Gardnerella vaginalis* (*G. vaginalis*), *U. urealyticum*, *Mobiluncus*, *M. hominis* y *Prevotella*, y una disminución en la concentración de lactobacilos. El exudado vaginal es abundante, de color blanco lechoso, a veces espumoso y tiene un “olor a pescado”. Este olor es resultado de los productos del metabolismo

bacteriano (poliaminas) que son volatilizados por los líquidos vaginales. Puede existir irritación vulvar o vaginal en algunos casos. (14) (15)

Infecciones urinarias: Constituyen la enfermedad infecciosa más frecuente durante el embarazo, se encuentran en un 12% de la población embarazada sana y 30% de la población con factores de riesgo. Se puede dividir en bacteriuria asintomática, infección del tracto urinario (ITU) baja y pielonefritis aguda. Entre los microorganismos aislados con mayor frecuencia se encuentran: *Escherichia coli* (*E. coli*), *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*), *S. agalactiae*, etc. (16)

1.1.4 SECRECIÓN VAGINAL

El flujo vaginal es una secreción normal de coloración clara, transparente o blanquecina; no es irritativo, y su olor no es ofensivo. Se halla en poca cantidad (entre 1 y 2 mL cada 24 horas) y está constituido por la secreción procedente de las glándulas cervicales y por la trasudación de las paredes vaginales.

Dentro de la flora vaginal destacan los bacilos de Döderlein (lactobacilos). La acidez del medio vaginal se da por la interacción entre el glucógeno producido a partir de las células vaginales epiteliales con los bacilos de Döderlein, dando como resultado la producción de ácido láctico. (17)

El proceso de formación de este ácido es el siguiente: las células que se descaman del epitelio vaginal llevan consigo glucógeno; al destruirse por un proceso de autólisis liberan el glucógeno y dos fermentos, una diastasa que transforma el glucógeno en maltosa, y una maltasa que transforma la maltosa en glucosa. Esta es aprovechada como alimento por el bacilo de Döderlein, que finalmente la convierte en ácido láctico. Esta transformación también puede ocurrir por fermentación anaerobia. (3)

UNIVERSIDAD DE CUENCA

Además del ácido láctico, los lactobacilos también pueden producir peróxido de hidrógeno, que al interactuar con el oxígeno produce un radical hidroxilo que provee acción desinfectante para numerosos gérmenes. La pérdida de la flora vaginal normal, dominada por los lactobacilos, aumenta las posibilidades de sufrir una infección exógena tras exponerse a patógenos de transmisión sexual, así como el riesgo de sufrir una infección endógena asociada a un embarazo. (18)

Patológicamente, el flujo aumenta y cambia de aspecto. En su posición citológica predominan los leucocitos, hematíes y células epiteliales, en proporción variable.

En las secreciones vaginales de mujeres sanas se puede encontrar un pequeño número de polimorfonucleares (PMN). El hallazgo de más de un PMN por célula epitelial debe despertar la sospecha de que exista una inflamación vaginal. Sin embargo, un número escaso de PMN no descarta una infección vaginal.

Las células epiteliales escamosas normales poseen un citoplasma transparente y núcleos pequeños. Las células inmaduras (parabasaes) son de menor tamaño y poseen núcleos mayores. Las células epiteliales cubiertas por pequeñas formas cocobacilares se denominan células clave (clue cells) y se asocian con la VB. Las células clave se reconocen mejor observando los bordes de las células epiteliales, que pueden oscurecerse por los cocobacilos adheridos.

La ausencia relativa de PMN es un signo particular de la secreción de la VB. De hecho, ante el hallazgo de muchos PMN en la secreción vaginal de una paciente con VB hay que descartar una infección simultánea como la tricomoniasis, la gonococia o la cervicitis por clamidias.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

La candidiasis vaginal puede producir una secreción que presente pocos leucocitos. Las pseudohifas sugieren una candidiasis vaginal, aunque con frecuencia en esta enfermedad solo se observan un número moderado o incluso reducido de levaduras.

Las tricomonas se identifican por sus movimientos contráctiles ondulantes, la motilidad de las tricomonas aumenta si se calienta ligeramente la preparación.

La tinción de Gram del material vaginal es menos útil que la extensión en fresco para realizar un diagnóstico diferencial. Aunque las levaduras se distinguen fácilmente en una tinción de Gram las tricomonas son más difíciles de identificar. Aunque la flora vaginal normal se compone principalmente de bacilos Gram positivos, lactobacilos en su mayor parte en la VB se ve reemplazada por láminas de cocobacilos Gram variables, que a menudo recubren la superficie de las células epiteliales. Las mujeres con candidiasis vulvovaginal pueden presentar en ocasiones cantidades significativas de levaduras ramificadas y pseudohifas. La tinción de Gram es negativa en muchas mujeres con cultivos positivos para *Candida*. (19)

1.1.5 FLORA MICROBIANA NORMAL DE LA VAGINA

La flora del aparato genital femenino varía con el pH y la concentración de estrógenos de la mucosa, lo que depende de la edad de la mujer. Las mujeres prepúberas y posmenopáusicas albergan sobre todo estafilococos y corinebacterias, mientras que las mujeres en edad de reproducción pueden albergar cantidades grandes de bacterias facultativas como miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, estreptococos y estafilococos, así como anaerobios, por ejemplo, lactobacilos, bacilos y cocos anaerobios no esporulados y clostridios. Los

lactobacilos son los microorganismos predominantes en las secreciones de la vagina normal. (14)

Durante el embarazo la concentración de lactobacilos aumenta 10 veces, los organismos anaeróbicos son menos comunes y los organismos aeróbicos relativamente constantes. A medida que el embarazo progresa, el aumento en los niveles de lactobacilos hace que el ecosistema vaginal inhiba el crecimiento de muchos microorganismos patógenos o potencialmente patógenos como *E. coli*. (18)

1.2 ESTREPTOCOCOS

1.2.1 GENERALIDADES

1.2.1.1 Morfología e identificación

Microorganismos típicos: Los estreptococos son bacterias Gram positivas de forma esférica u ovoide dispuestos en pares o en cadenas cuyas longitudes varían según las especies y están condicionadas por factores ambientales; se dividen según un plano perpendicular al eje largo de la cadena. Los miembros de esta cadena con frecuencia presentan un aspecto diplocócico, y en ocasiones se observan formas parecidas a bacilos. Son inmóviles y no forman esporas, miden menos de 2 μm de diámetro y son catalasa negativos. (20) (21) (22)

Algunas especies elaboran un polisacárido capsular comparable al del neumococo que impide la fagocitosis. La mayor parte de las cepas de los grupos A, B y C producen cápsulas compuestas de ácido hialurónico. La pared de la célula estreptocócica contiene proteínas (antígenos M, R, T), carbohidratos (específicos de grupo) y peptidoglucanos. (21)

UNIVERSIDAD DE CUENCA

Cultivo: Los requerimientos nutricionales varían con las diferentes especies. La mayoría, y principalmente los patógenos para el ser humano, son exigentes en sus requerimientos y necesitan péptidos, purinas, pirimidina y vitaminas. Con el fin de obtener un mejor crecimiento de las cepas de estas especies de estreptococos, los medios de cultivo se enriquecen con sangre o con líquidos hísticos diversos. La mayoría de las especies son anaerobias facultativas y obtienen energía sobre todo, por fermentación de carbohidratos generando ácido láctico como producto final.

Algunas especies requieren la adición de un 5 a 10% de CO₂ para crecer e incrementar su hemólisis y otras son anaerobias estrictas. La temperatura óptima de crecimiento varía alrededor de los 37 °C, según la especie. (23)

Características del crecimiento: Generalmente los estreptococos se desarrollan como colonias discoidales, grises, opalescentes, delicadas, de bordes lisos o arrugados, y miden entre 0,5 y 2 mm de diámetro. Las colonias se hacen visibles en placas de agar sangre entre las 18 y 24 horas subsiguientes a la siembra.

Las colonias de los estreptococos del grupo A se distinguen por ser mucoides, mates y brillantes, en tanto que las cepas de los grupos F y G pueden producir colonias diminutas. (23)

1.2.1.2 Estructura antigénica.

La composición de la pared celular de los estreptococos es análoga a la de otras bacterias Gram positivas y está compuesta esencialmente de peptidoglucano, en el cual se hallan impregnados una variedad de

UNIVERSIDAD DE CUENCA

carbohidratos, ácidos teicoicos, lipoproteínas y antígenos de proteínas de superficie. (22)

Los estreptococos hemolíticos pueden dividirse en grupos serológicos, y estos a su vez pueden subdividirse en varios tipos. Dentro de ellos encontramos diversas sustancias antigénicas:

Antígeno de la pared celular específico de grupo: Constituye la base de los grupos serológicos (grupos de Lancefield). Este carbohidrato se encuentra en la pared celular de muchos estreptococos y su especificidad serológica se determina mediante un aminoazúcar.

Proteína M: Es un factor de virulencia importante para el *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*) del grupo A; tiene la apariencia de prolongaciones semejantes a pelos de la pared celular del estreptococo. Cuando está presente, los estreptococos son virulentos, y en ausencia de anticuerpos específicos pueden resistir la fagocitosis efectuada por los leucocitos polimorfonucleares. (21)

Sustancias R y T: Son antígenos de superficie no relacionados con la virulencia del estreptococo y con función biológica desconocida. No obstante, con la sustancia T se pueden diferenciar ciertos tipos de estreptococos ya sea por aglutinación o con antisueros específicos. (21)
(22)

1.2.1.3 Clasificación.

La clasificación para diferenciar este grupo heterogéneo de microorganismos no es única. Depende de una combinación de características que incluyen los patrones de hemólisis observados en placas de agar sangre, composición antigénica, características de las colonias, reacciones bioquímicas y más recientemente, análisis genéticos

UNIVERSIDAD DE CUENCA

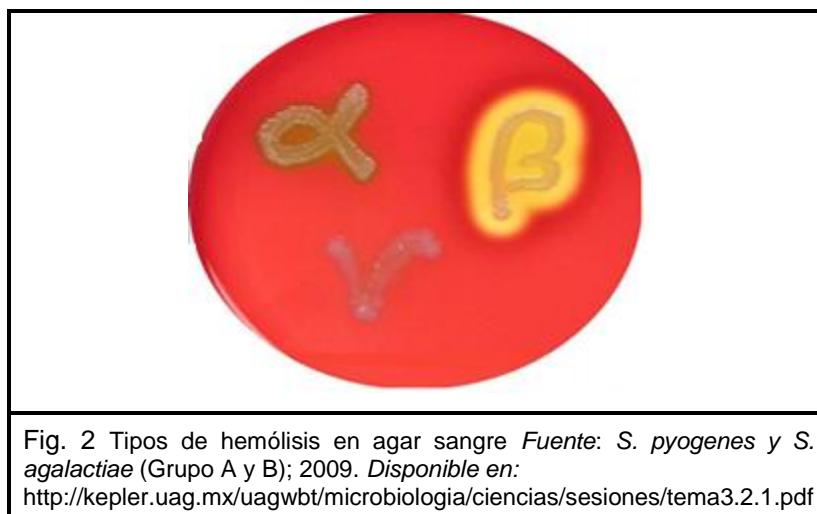
(Tabla 1). Así para su clasificación se han empleado tres criterios principales: (24)

Hemólisis

Estreptococos β -hemolíticos: producen una zona clara de hemólisis en el medio rojo opaco que rodea la colonia (Fig. 2).

Estreptococos α -hemolíticos o verdes: producen una zona verde de decoloración con hemólisis parcial alrededor de la colonia, en agar sangre.

Estreptococos γ -hemolíticos o no hemolíticos: no provocan cambio alguno de coloración en el medio. (20)



Sustancia específica de grupo

Lancefield ha clasificado a los estreptococos β -hemolíticos mediante serología, estos microorganismos poseen un antígeno grupo específico llamado sustancia C. La sustancia C está constituida por ácidos teicoicos formados por polímeros de fosfato de ribitol que contiene colina y galactosamina-6-fosfato y se une covalentemente al peptidoglucano de la

UNIVERSIDAD DE CUENCA

superficie externa de la pared celular. Cuando este componente es un polisacárido a los estreptococos se los clasifica en grupos A, B, C, F y G y cuando es ácido teicoico en grupo D hasta N. (24) (25)

Reacciones bioquímicas (fisiológicas)

Las pruebas bioquímicas incluyen reacciones de fermentación de azúcar, pruebas para determinar la presencia de enzimas y pruebas de susceptibilidad o resistencia a ciertos agentes químicos. Las pruebas bioquímicas se utilizan con mayor frecuencia para clasificar los estreptococos después de observar el crecimiento de la colonia y las características hemolíticas. (21)

Tabla 1. Estreptococos de importancia médica

Denominación	Grupo de Lancefield	Hemólisis	Hábitat	Datos de laboratorio de importancia diagnóstica
<i>S. pyogenes</i>	A	Beta	Garganta, piel	Inhibición por bacitracina; PYR (+)
<i>S. agalactiae</i>	B	Beta	Tracto genital femenino	CAMP (+); hidrólisis del hipurato
<i>S. bovis</i>	D	No produce	Colon	Crece en presencia de bilis, hidroliza la esculina, no crece en NaCl al 6,5% y degrada el almidón
<i>S. grupos C y G</i>	C ó G	Beta	Nasofaringe	Resistente a la bacitracina, sensible al TSM

UNIVERSIDAD DE CUENCA

<i>S. viridans</i> (grupo integrado por diferentes especies)	Algunas especies poseen sustancia específica de grupo y otras no	Alfa	Garganta, boca, intestino, genitales femeninos	Resistente a optoquina, no solubles en bilis, diferentes patrones de fermentación de carbohidratos (según especie)
<i>S. pneumoniae</i>	No poseen sustancia específica de grupo	Alfa	Tracto respiratorio superior	Prueba de hinchazón de la cápsula, lisis por agentes tensoactivos, susceptible a optoquina
<i>S.</i> (<i>Streptococcus</i>); (+) Positivo; TSM (trimetoprin sulfametoxazol); NaCl (cloruro de sodio) <i>Fuente:</i> Microbiología y Parasitología Médicas; 2001.				

1.2.2 ESTREPTOCOCO GRUPO B

Los estreptococos que poseen el antígeno del grupo B de Lancefield están englobados en una sola especie, *Streptococcus agalactiae*.

El SGB forma parte de la flora microbiana endógena del ser humano, encontrándose en la vagina, uretra y tracto gastrointestinal. Su patogenicidad es más evidente en neonatos, en los cuales suele provocar septicemia, neumonía y meningitis. (1)

1.2.2.1 Fisiología y estructura.

Los SGB son cocos Gram positivos de forma esférica u ovoide, con un diámetro aproximado de 0,6 a 1,2 μm que generalmente forman cadenas cortas en muestras clínicas y cadenas más largas en cultivo. Son anaerobios facultativos, catalasa negativos y dan reacciones positivas a las pruebas de CAMP (Christie, Atkins, Munch-Petersen) e hidrólisis del hipurato. (20) (21) (26)

UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tienen un buen crecimiento en medios enriquecidos con nutrientes; las colonias poseen un diámetro aproximado de 2 mm, son blanquecinas, lisas y están rodeadas por un estrecho halo de β -hemólisis, aunque hay aproximadamente entre un 1 a 2% de cepas no hemolíticas. (20) (27)

1.2.2.2 Identificación.

Las pruebas bioquímicas preliminares que se emplean con mayor frecuencia son la prueba de CAMP, la hidrólisis del hipurato y la resistencia a discos de bacitracina y cotrimoxazol, aunque ninguna de ellas es específica. En medios de cultivo especiales (medio Granada) el SGB produce un pigmento de color rojo naranja característico que permite su identificación directa, aunque las cepas no hemolíticas no producen pigmento. La identificación definitiva de SGB requiere la demostración del antígeno específico de grupo que se lleva a cabo mediante la aglutinación con partículas de látex. (28)

1.2.2.3 Clasificación serológica.

Las cepas de SGB se pueden subdividir en función de la presencia de tres marcadores serológicos:

El antígeno específico de grupo B o Sustancia C, (común a todas las cepas). Posee una estructura ramificada y compleja y está situado sobre la pared de la bacteria. Los anticuerpos frente al antígeno de grupo no son capaces de proteger frente a la infección.

El antígeno polisacárido capsular tipo-específico o Sustancia S. Se han identificado nueve tipos distintos Ia, Ib, II hasta VIII. Este antígeno está constituido por diversos azúcares (glucosa, galactosa, N-acetil glucosamina, ramnosa y ácido siálico) dispuestos en una estructura linear



UNIVERSIDAD DE CUENCA

repetitiva. Los anticuerpos frente a este antígeno son capaces de proteger de la infección causada por cepas de su tipo.

Antígenos proteicos de superficie, fundamentalmente la proteína C. Este antígeno se encuentra en todas las cepas Ia y Ib, en el 60% de las cepas tipo II, y raramente en las cepas de tipo III. Por lo tanto, las designaciones de serotipo para las cepas que poseen antígeno C se expresan como Ia/c, Ib/c y II/c. Existen otros antígenos proteicos como las proteínas R y Rib, pero carecen de función conocida. (20) (19) (22)

1.2.2.4 Factores de virulencia.

El antígeno polisacárido capsular (tipo-específico) es un factor clave de virulencia, y por ello el desarrollo de vacunas capaces de provocar respuesta inmune frente a este antígeno tipo específico se considera un enfoque prometedor para la prevención de la infección por SGB. También se ha sugerido que las proteínas capsulares (C, Rib, etc.) contribuyen a la virulencia.

Se cree que las cepas capsuladas son más virulentas por el papel que desempeña el ácido siálico (forma parte del polisacárido capsular) que actúa como factor de virulencia.

La estructura de la hemolisina del SGB es desconocida pero recientemente se ha demostrado que es otro factor de virulencia importante. En la patogénesis de la infección neonatal actúa como citotoxina, lesionando directamente las células y/o activando la respuesta inflamatoria. También induce la producción de óxido nítrico a nivel de los macrófagos y se asocia con un incremento de mortalidad en modelos animales de infección.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Aunque poco frecuentes y menos virulentas, se han descrito infecciones graves por cepas no hemolíticas de SGB.

El pigmento de SGB también podría jugar un papel como factor de virulencia, las cepas pigmentadas son siempre hemolíticas y la producción de pigmento no se ha observado cuando el SGB está produciendo infección o crece en cultivos celulares, el papel como factor de virulencia atribuido al pigmento probablemente sea debido a la hemolisina. (27)

1.2.2.5 Patogenia.

En la fisiopatología de la infección invasiva por SGB están implicados varios factores bacterianos, el principal de ellos constituye el polisacárido capsular de tipo específico. Las cepas asociadas con infección invasiva elaboran más polisacárido capsular que las cepas colonizadoras.

Todos los polisacáridos capsulares son polímeros de alto peso molecular y además de estar constituidos por azúcares todos contienen una cadena corta lateral terminada en ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico).

Estudios realizados en las cepas tipo III de SGB sugieren que este serotipo posee mayor virulencia, la misma que estaría asociada con el ácido siálico componente estructural de la cápsula tipo III. Su presencia en la superficie del microorganismo inhibe la activación de la vía alternativa del complemento y evita la fagocitosis. La carencia de anticuerpos contra estos antígenos específicos de tipo es un factor crucial para el desarrollo de enfermedades producidas por SGB.

Las mujeres colonizadas con SGB tipo III que dan a luz niños sanos presentan niveles de anticuerpos específicos contra polisacárido capsular



UNIVERSIDAD DE CUENCA

significativamente superiores que las que alumbran niños que desarrollan la enfermedad invasiva.

La transferencia transplacentaria de anticuerpos maternos constituye un factor crítico en la inmunidad neonatal contra SGB. Para que ésta sea óptima, también se requiere un sistema de complemento intacto. Con la eliminación del ácido siálico capsular empleando neuraminidasa se promueve la activación del complemento, fagocitosis y muerte intracelular de los microorganismos. (22) (29)

Los estudios en animales que emplean ratones con deficiencia de C3 y C4 demuestran que la vía clásica del complemento es un componente importante de la inmunidad contra SGB en ausencia de anticuerpos tipo específicos, pero que la opsonofagocitosis puede llevarse a cabo por la vía alternativa del complemento. (29)

1.2.2.6 Manifestaciones clínicas.

Infecciones del aparato genital femenino: En mujeres con parto vaginal, las colonizadas por SGB presentan una frecuencia significativamente mayor de rotura prematura de membranas, fiebre posparto y endometritis en comparación con las mujeres no colonizadas. Otra frecuente manifestación de morbilidad en mujeres embarazadas es la infección de vías urinarias. (20)

En los neonatos se distinguen dos síndromes de enfermedad por SGB en base a la edad de presentación, las características epidemiológicas y las características clínicas.

Enfermedad de comienzo precoz: El microorganismo se adquiere ya sea por infección ascendente in útero antes del parto, a través de las



UNIVERSIDAD DE CUENCA

membranas fetales rotas, o durante el pasaje a través de un canal de parto colonizado con SGB.

El comienzo de la enfermedad ocurre dentro de los primeros 5 días de vida; en más de la mitad de los casos, los niños enferman dentro de las 12 a 20 horas del parto. La infección intraútero puede dar lugar a un aborto séptico. (29)

Generalmente se manifiesta por: letargia, dificultad en la alimentación, ictericia, pobre regulación de la temperatura corporal, palidez e hipotensión. Casi todos los niños tienen compromiso respiratorio; la meningitis es frecuente pero indistinguible de otras meningitis causadas por otras bacterias. (30) (31)

Enfermedad de comienzo tardío: La enfermedad se hace evidente entre los 7 días y los 3 meses después del nacimiento. La mitad de las infecciones de comienzo tardío se adquieren a partir del canal de parto de las madres colonizadas; mientras que los casos restantes se deben a la adquisición posnatal del microorganismo a partir de la madre o de otras personas dedicadas a la atención del niño, por enfermedad nosocomial. (22)

Se manifiesta principalmente por bacteriemia, meningitis e infecciones focales en huesos y articulaciones. En algunos pacientes la presentación es fulminante progresando en pocas horas; se asocia a mal pronóstico. Las secuelas son frecuentes (25 – 50%) en forma de ceguera, sordera y retardo en el desarrollo. (20) (30) (31)

La afectación meníngea es casi constante y es la responsable de la semiología clínica de la enfermedad (hipertermia, convulsiones, alteración del tono muscular, apneas, etc.). (27)

Infección neonatal recurrente: La reinfección o la recaída tras la infección neonatal tanto precoz como tardía no son excepcionales, ocurriendo en un 0,5 a 3% de pacientes. Dado que los recién nacidos tratados por una infección por SGB frecuentemente permanecen colonizados, la colonización faríngea o gastrointestinal persistente puede ser el origen de nuevos episodios de infección. (27)

1.2.2.7 Diagnóstico de laboratorio.

La detección intraparto de colonización con SGB en mujeres que están por dar a luz podría ser suficiente para catalogar con certeza a las pacientes de alto riesgo quienes podrían beneficiarse con quimioprofilaxis temprana.

Los métodos para detección de colonización por SGB incluyen la amplificación por cultivo, la aglutinación del látex, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la hibridación in situ con detección por microscopía de fluorescencia. En la técnica de amplificación en cultivo se colocan los hisopados vaginales y rectales en medios líquidos de enriquecimiento selectivo que inhiben a las bacterias competidoras y posteriormente se subcultivan en medios sólidos adecuados. Esta técnica es muy sensible pues detecta colonizaciones densas y leves, pero su resultado no es rápido. (22)

Las pruebas de identificación rápida como la aglutinación con látex disponibles en la actualidad presentan una sensibilidad y especificidad que varía entre el 80 y el 100%, valores que dependen de varios factores, entre los que se encuentran el tipo de muestra probada, si las muestras se concentran o no antes de realizar la prueba, y las veces que se obtienen muestras en el curso de la enfermedad. (22) (32)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

La PCR en tiempo real es una técnica nueva que todavía no se implementa en forma amplia para la detección rápida de SGB, tiene una sensibilidad del 97% y una especificidad del 100%. Con esta técnica es posible detectar SGB en muestras clínicas en cortos períodos de tiempo. Sin embargo, su alto costo de equipamiento y la necesidad de garantizar su disponibilidad a cualquier hora todos los días hacen difícil su generalización.

Otra técnica prometedora para la detección rápida de portadoras de SGB es la hibridación *in situ* con detección por microscopía de fluorescencia (*Fluorescent in Situ Hybridation*, FISH). Esta técnica detecta ARN ribosomal hibridándolo con una sonda específica marcada con fluorocromo, esta tecnología es prometedora pero adolece de los mismos problemas que la PCR en tiempo real, fundamentalmente el alto costo del instrumental y requerimiento de personal muy especializado. (27) (32)

1.2.2.8 Epidemiología.

Los SGB constituyen la principal causa de sepsis y meningitis durante los primeros días de vida; son también causantes comunes de fiebre durante el parto y provocan, en ocasiones, infecciones graves en adultos que no guardan relación con el embarazo. Son residentes habituales del tracto gastrointestinal y en menor proporción se hallan diseminados en otros sitios, el más importante de los cuales es la vagina. (26) (31)

Se han aislado SGB en cultivos del aparato genital y de la zona distal del tubo digestivo en mujeres gestantes y no gestantes, en una proporción que oscila entre el 10 y el 40%. Estas variaciones en la prevalencia de colonización asintomática no solo se relacionan con las diferencias existentes entre las zonas de muestreo y los métodos bacteriológicos empleados para detectar al microorganismo, sino también con las

UNIVERSIDAD DE CUENCA

diferencias demográficas entre las poblaciones estudiadas. Cuando se obtienen muestras de más de un sitio apropiado, como la porción inferior de la vagina o el recto, y se utiliza un caldo de cultivo adecuado, la tasa de colonización suele superar el 20%. (19)

La colonización con SGB es más frecuente en mujeres de raza negra que en las de otras etnias. La actividad sexual, el tener múltiples parejas y actos sexuales frecuentes se asocia a un mayor riesgo de adquisición vaginal de SGB a lo largo del tiempo pues se cree que esta actividad altera el microambiente de la vagina de forma que lo hace más permisivo a la colonización. Se han observado tasas de colonización genital significativas en mujeres mayores de 20 años o en multíparas. La gestación no influye por sí misma en la prevalencia de colonización por SGB. (19)

Los SGB pueden encontrarse en la flora normal de la vagina del 10 al 30% de las mujeres, y durante el embarazo y el parto estos microorganismos pueden acceder al líquido amniótico o colonizar al recién nacido tras su paso por el canal del parto. Cerca de 50% de los niños nacidos por vía vaginal de madres portadoras resultan colonizados, aunque sólo 1 a 2% de ellos llega a sufrir una infección clínicamente evidente. (26) (31) (33)

El riesgo es mucho mayor cuando se presentan factores que disminuyen la inmunidad innata del infante (premature) o incrementan las posibilidades de transmisión (ruptura de membranas). Algunos niños nacen sanos pero desarrollan sepsis 1 a 3 meses después. No se conoce si el organismo en estos casos fue adquirido durante el parto, en forma intrahospitalaria o en la comunidad. (31)

El SGB es una importante causa de infección en los recién nacidos en países industrializados, pero muy pocas veces reportada en naciones no

UNIVERSIDAD DE CUENCA

industrializadas. En los Estados Unidos de América la colonización materna oscila entre 10% a 34%. Se han reportado bajas tasas de colonización materna en países en vías de desarrollo como Perú y México (4% – 9%), y otras más altas (18% – 25,5%) en Brasil y Trinidad. Una explicación de las cifras bajas reportadas en algunos países sería la presencia de altos niveles de anticuerpos maternos contra el SGB, asimismo, es también posible que estos serotipos sean menos virulentos. (34)

Según estudios realizados por Ocampo et al en Chiapas-México en el año 2000 en 910 gestantes hubo una prevalencia del 8,6%; Fernández et al, en un artículo publicado en 2006, realizado en 207 embarazadas en República Dominicana encontró una prevalencia del 44%; Dubón et al, en una investigación realizada en Nicaragua en el año 2007, en 120 gestantes halló una prevalencia del 11%; Panza N. en Venezuela obtuvo una prevalencia entre 2003-2004, en 88 pacientes embarazadas del 9,1%.

En nuestro medio se han realizado tesis para detectar SGB mediante investigaciones realizadas en el Hospital Regional Vicente Corral Moscoso por Sacoto-Espinoza en el año 2003 en 150 pacientes embarazadas en la cual se obtuvo una prevalencia de 15,9%; Berrezueta L. obtuvo una prevalencia de 5,7% en un análisis realizado en 52 gestantes en labor de parto en el año 2005.

1.2.2.9 Tratamiento.

El esquema recomendado para esta quimioprofilaxis consta de penicilina G. Otra opción en las mujeres con antecedente de alergia a la penicilina que no tienen riesgo de padecer anafilaxis es la cefazolina. En las mujeres con antecedente de hipersensibilidad inmediata se puede utilizar clindamicina o eritromicina, pero sólo si se ha demostrado que las cepas



UNIVERSIDAD DE CUENCA

clínicas son sensibles. Cuando no existen pruebas de sensibilidad o bien éstas indican resistencia se recurre a la vancomicina. (26)

1.2.2.10 Prevención.

La fuente habitual de los microorganismos que infectan a los recién nacidos es la vía del parto, por lo que se ha intentado prevenir las infecciones por SGB identificando a las madres portadoras de alto riesgo y tratándolas con antibióticos. La administración profiláctica de ampicilina o penicilina a estas pacientes durante el parto ha reducido el riesgo de infección en los recién nacidos. El CDC recomienda realizar detecciones sistemáticas de colonización en mujeres entre las 35 y 37 semanas de embarazo obteniendo una muestra con hisopo del tercio exterior de la vagina y la región ano rectal para someterla a cultivo. En las mujeres con cultivo positivo y en las que han dado a luz previamente a un lactante con infección por SGB o con antecedente de bacteriuria por SGB durante el embarazo se recomienda quimioprofilaxis durante el parto. Las mujeres cuyo resultado del cultivo se desconoce y que comienzan con trabajo de parto prematuro (menos de 37 semanas), ruptura prolongada de membranas (más de 18 h) o fiebre también deben recibir quimioprofilaxis antes del alumbramiento.

Aunque todavía se encuentra en fase de desarrollo, la vacuna contra SGB ofrecerá en el futuro una mejor solución. La transmisión de anticuerpos maternos a través de la placenta induce títulos protectores en el recién nacido, por lo que se está intentado crear una vacuna contra los SGB que pueda administrarse a las mujeres en edad fértil antes o durante el embarazo. (20) (26)



CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 LOCALIZACIÓN

La presente investigación se la realizó en la Fundación Pablo Jaramillo Crespo, que se encuentra ubicada al Oeste de la ciudad de Cuenca, en la Av. Carlos Arízaga Vega y la Av. de las Américas, perteneciente a la parroquia el Batán.

Las muestras obtenidas fueron procesadas en el Laboratorio de Atención al Público de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca, localizado en el Sur oriente de la ciudad, en la Ciudadela Universitaria, en la calle Agustín Cueva y Av. 12 de Abril, perteneciente a la parroquia Sucre.

2.2 RECURSOS

2.2.1 Recursos humanos

Autorización del Director de la Fundación Pablo Jaramillo Crespo, Dr. Marcelo Aguilar, para la realización de la toma de muestra (Anexo 1).

Doctores especialistas en Ginecología de la Fundación Pablo Jaramillo C., que colaboraron con la investigación.

Estudiantes egresadas de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Universidad de Cuenca, para recolectar la información de las gestantes,



UNIVERSIDAD DE CUENCA

realizar la toma y el procesamiento de muestras, con la tutoría de la Dra. Lourdes Jerves y asesoramiento de la Dra. Luz María Samaniego y del Dr. Germán Flores.

2.2.2 Recursos institucionales

Laboratorio de Atención al Público de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca

Departamento de Ginecología y Laboratorio de la Fundación Pablo Jaramillo C.

2.2.3 Recursos materiales

Los recursos de Laboratorio empleados para la realización de los exámenes microbiológicos y el procesamiento de los datos se detallan en el Anexo 2.

2.3 UNIVERSO

El Universo estuvo constituido por las pacientes embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación que acudieron a la consulta prenatal de la Fundación Pablo Jaramillo C. durante el periodo Septiembre de 2011 a Enero de 2012, y que bajo solicitud médica debían realizarse la determinación para SGB.

2.4 MUESTRA

Se recolectaron cien muestras de secreción vaginal e hisopado ano rectal de mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación que cumplieron con los criterios de selección.



2.5 VARIABLES

Se consideraron en las pacientes embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación que acudieron para atenderse en consulta externa en el área de Ginecología y Obstetricia como variables la frecuencia de SGB aislado de cultivo de secreción vaginal y cultivo de hisopado ano rectal y la sensibilidad frente a los antibióticos de elección mediante la técnica de difusión en disco. Otras variables a considerar fueron la edad, paridad, nivel de instrucción y lugar de residencia.

2.6 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación fue descriptiva de corte transversal.

2.7 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Se procesaron las muestras de las pacientes que bajo pedido médico debían realizarse la determinación para SGB y que acudieron al servicio de Ginecología de la consulta externa de la Fundación Pablo Jaramillo C., desde el 12 de septiembre del 2011 al 19 de enero del 2012, realizándose las siguientes actividades:

Entrevista: A cada paciente se le realizó una entrevista en la cual se le informó previamente sobre los objetivos de la investigación, como sería manejada la información y, sobre los posibles riesgos de la toma de muestra. Además se le orientó y explicó la importancia de las infecciones causadas por la colonización de SGB, el significado de un resultado positivo y un negativo, como prevenirlas etc., evaluándose los factores de riesgo (Anexo 3).



Consentimiento informado de participación en el estudio: A cada paciente se le solicitó su consentimiento por escrito para poder incluirle en el estudio (Anexo 4).

Las identificaciones para cada paciente incluyeron un mismo código para la entrevista, el consentimiento y cada una de sus muestras.

Toma de muestra: Se recolectaron muestras tanto de secreción vaginal como de hisopado ano rectal de las pacientes entre 35 y 37 semanas de gestación, siendo cada una de estas procesada por duplicado. (Anexo 5)

Transporte de las muestras: Una vez tomadas las muestras se procedió a inocularlas en solución salina para el posterior examen en fresco, así como en el medio de transporte STUART para preservar la muestra antes de su procesamiento. (Anexo 6)

Procesamiento de la Muestra

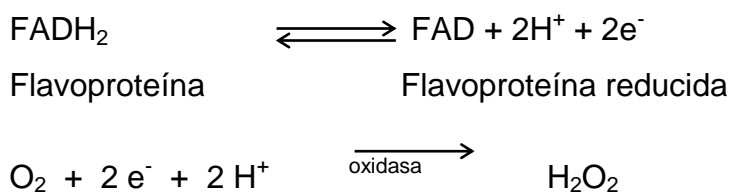
- a) Una vez que las muestras llegaron al Laboratorio de Atención al Público de la Universidad de Cuenca se procesaron conforme el flujograma establecido (Anexo 7). En primera instancia se procedió a realizar el examen en fresco de la secreción vaginal y la tinción de Gram de las placas tomadas tanto de hisopado vaginal como ano rectal. (Anexo 8)
- b) Posteriormente se inoculó el hisopo del Medio de Transporte STUART en un tubo con Caldo Todd Hewitt suplementado con gentamicina (8 µg/mL) (Anexo 9) y se incubó de 18-24 horas a 37 °C en la estufa.

UNIVERSIDAD DE CUENCA

- c) Al día siguiente con la ayuda del hisopo antes mencionado y de un asa bacteriológica estéril se procedió a realizar la siembra en agar sangre de cordero al 5% (Anexo 10) mediante la técnica de estría-punción para el aislamiento de estreptococos β -hemolíticos (Anexo 11), y se incubaron las cajas Petri a 37 °C por 24-48 horas en una atmósfera al 5% de CO₂.
- d) Pasadas las 24 horas se observó la placa de agar sangre de cordero al 5% en búsqueda de colonias β -hemolíticas y/o sospechosas. Con dichas colonias se procedió a realizar la tinción de Gram y prueba de catalasa (Anexo 12). En caso de visualizar con la tinción cocos Gram positivos en pares o en cadenas y obtener prueba de catalasa negativa se efectuó la prueba de CAMP (Anexo 13). Si no se observó crecimiento o éste fue escaso se reincubó la placa por 24 horas más.

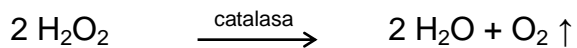
Fundamento de la prueba de catalasa: La catalasa es una enzima que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas (aerotolerantes) que poseen citocromos, excepto en las especies de *Streptococcus* y en la mayoría de las bacterias anaerobias (p. ej. especies de *Clostridium*).

Se puede hallar catalasas que son hemoproteínas y otras que se encuentran en los microorganismos incapaces de producir la síntesis del hemo; pueden ser flavoproteínas. Cuando las flavoproteínas reducidas o las proteínas con azufre y hierro reducidas se unen con el oxígeno y las oxidasas presentes en la cadena respiratoria de las bacterias, se forma el peróxido de hidrógeno (H₂O₂).



UNIVERSIDAD DE CUENCA

El H_2O_2 es el producto final oxidativo de la degradación aerobia de los azúcares. La flavoproteína reducida reacciona de manera directa con el oxígeno gaseoso (O_2) por vía de la reducción de electrones para formar H_2O_2 , más no por la acción directa entre el hidrógeno y el oxígeno molecular. La catalasa elimina de forma catalítica el H_2O_2 .



Cuando el H_2O_2 se acumula resulta tóxico para las bacterias y produce su muerte. El H_2O_2 se descompone por medio de la acción de dos enzimas: a) catalasa (peróxido de hidrógeno oxidoreductasa) y b) cualquier peroxidasa, dinucleótido de adenina y nicotinamida (NADH), fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido (NADPH), citocromo c o glutatión. (22)

Fundamento de la prueba de CAMP: esta prueba se usa principalmente para diferenciar e identificar de manera presuntiva SGB, y se realiza utilizando una cepa de *S. aureus* productora de β -hemolisina.

Los SGB secretan una proteína difusible, extracelular y termoestable denominada "factor CAMP" que interactúa con la β -hemolisina producida y secretada por el *S. aureus*, lo que origina aumento o sinergia de la hemólisis. La toxina β de *S. aureus*, es una esfingomielinasa que lisa la esfingomielina presente en la membrana externa de los eritrocitos ovinos y produce ceramidas y fosforilcolina insolubles en agua. Sobre esa membrana alterada actúa el factor CAMP, con lo que se forma un poro que causa la lisis de la célula, lo cual se detecta macroscópicamente como un incremento de la hemólisis, que es mayor en la cercanía de la cepa de *S. aureus* y se

UNIVERSIDAD DE CUENCA

manifiesta por una zona de hemólisis en forma de “punta de flecha”.
(22)

- e) Todas las colonias identificadas como SGB fueron confirmadas por la prueba de aglutinación de látex (SLIDEX® Strepto Plus) (Anexo 14).

Fundamento de la prueba de aglutinación de látex: el antígeno específico de grupo se extrae de forma enzimática de la pared celular del estreptococo, se lo identifica en el extracto mediante partículas de látex sensibilizadas con el anticuerpo anti-estreptococo del grupo específico. Se forman aglutinaciones visibles en la suspensión específica de partículas que reaccionan con el antígeno extraído. El látex permanecerá en suspensión si el antígeno no estuviera presente en el extracto. (35)

- f) A las cepas identificadas como SGB se les realizó la prueba de susceptibilidad antibiótica por la técnica de disco - placa de Kirby Bauer (Anexo 15).

Fundamento de la prueba de sensibilidad antibiótica por el método de difusión con disco de Kirby Bauer: un disco que tiene una cantidad específica de antibiótico, es aplicado a una superficie de agar inoculado con un microorganismo. El antibiótico difunde desde el disco al medio de cultivo en forma radial produciendo una zona de inhibición en la cual una concentración crítica de antibiótico inhibe el crecimiento bacteriano. La zona de inhibición es medida y se relaciona inversamente proporcional a la concentración mínima inhibitoria (CMI). (22)

UNIVERSIDAD DE CUENCA

- g) Los antibióticos empleados fueron: Penicilina, Eritromicina y Clindamicina, el diámetro de los halos de inhibición en mm fue registrado y mediante el uso de la tabla correspondiente a los Estreptococos se reportaron las cepas aisladas de SBG como sensibles, intermedias o resistentes según los criterios del CLSI 2011. (Anexo 16).

Para dar cumplimiento a los objetivos planteados se consideraron los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

2.8 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Pacientes embarazadas con 35 a 37 semanas de gestación establecidas por última fecha de menstruación (FUM) o ecografía temprana.
2. Pacientes embarazadas de cualquier edad y paridad.
3. Pacientes embarazadas que otorguen su consentimiento informado.
4. Pacientes que no hayan recibido tratamiento con antibióticos por lo menos 15 días antes del estudio.
5. Pacientes embarazadas que no hayan recibido tratamiento local vaginal con antimicrobianos por lo menos 48 horas antes del estudio.

2.9 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Pacientes embarazadas que recibieron terapéutica antibiótica vía oral o parenteral por lo menos 15 días previos al estudio.
2. Pacientes embarazadas que hayan recibido tratamiento local vaginal con antimicrobianos por lo menos 48 horas antes del estudio.
3. Pacientes en labor de parto.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

2.10 MANEJO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Los datos obtenidos se organizaron en tablas diseñadas para el ingreso de la información proveniente de los formularios de encuesta y de los resultados de laboratorio, y se procesaron aplicándose para la prevalencia de SGB un Test de Hipótesis para Proporciones y para las demás variables una estadística descriptiva para realizar la discusión y obtener las conclusiones correspondientes.

2.11 ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

Para la realización de esta investigación las pacientes fueron informadas sobre los objetivos de la misma, posibles riesgos de la toma de muestra, como sería manejada la información, y la manera de prevenir la infección, además se notificó que el estudio no tenía ningún costo adicional.

Una vez que la participante o su representante legal lo aceptaran, firmaron como constancia de que lo hicieron de manera libre, voluntaria y consciente.

Los resultados obtenidos fueron remitidos al médico tratante de cada paciente, para que en el siguiente control de la gestante el doctor sea el encargado de informar el resultado y si era necesario proporcionar el tratamiento adecuado.

Por el tipo de muestra biológica empleada, este estudio no conllevó riesgo para las participantes, ya que ellas no fueron sometidas a ninguna práctica experimental.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el período Septiembre de 2011 a Enero de 2012, se procesaron muestras de secreción vaginal e hisopado ano rectal de 100 mujeres embarazadas entre 35 y 37 semanas de gestación que acudieron a la consulta prenatal de la Fundación Pablo Jaramillo Crespo, con el objetivo de conocer la prevalencia de colonización genital de SGB. (ANEXO 17)

Las muestras de las pacientes se obtuvieron según los parámetros indicados por el Centro de Control de Enfermedades (CDC), las cuales además debían cumplir con los criterios de inclusión y exclusión establecidos para el estudio.

3.1 DATOS OBTENIDOS

Las tablas de datos fueron diseñadas para determinar la prevalencia de SGB en mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación (Tabla 1), prevalencia de SGB en secreción vaginal e hisopado ano rectal (Tabla 2), relación de SGB y grupo etario (Tabla 3), relación de SGB y número de gestas (Tabla 4), relación de SGB y nivel de instrucción (Tabla 5), relación de SGB y lugar de residencia (Tabla 6), sensibilidad de SGB frente a los antimicrobianos (Tabla 7) y frecuencia de otros microorganismos en secreción vaginal (Tabla 8).

3.2 RESULTADOS OBTENIDOS

Prevalencia de SGB en mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación.

La prevalencia de SGB en el presente estudio fue del 6%, mientras que el 94% no presentaron colonización por este microorganismo.

Tabla Nº 1: Prevalencia de SGB en mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación.

PREVALENCIA DE SGB	CASOS	%
Cultivo positivo	6	6,0%
Cultivo negativo	94	94,0%
TOTAL	100	100,0%

Fuente: Primaria, registro de laboratorio

Las cepas recuperadas de SGB correspondieron al 6% de las muestras analizadas considerando el cultivo de secreción vaginal así como el de hisopado ano rectal, porcentaje que se encuentra por debajo del rango obtenido en otras poblaciones de América que oscila entre el 10 al 20%, según Casale et al. Este resultado es similar al obtenido en Chiapas-México en el año 2000 por Ocampo et al, con una prevalencia del 8,6% y al realizado en Venezuela en el año 2003 por Panza con una prevalencia del 9,1%, aunque estos estudios se efectuaron en pacientes con factores de riesgo. (36) (37) (38)

Comparando con investigaciones realizadas entre las 35 y 37 semanas de gestación observamos resultados superiores al obtenido en el presente análisis, según estudios llevados a cabo en Brasil (2009) por Veit et al, y en Chile (2003) por Valdés et al, con prevalencias del 11,11% y 14% respectivamente. (39) (40)

UNIVERSIDAD DE CUENCA

La prevalencia podría variar en diferentes lugares de Latinoamérica dependiendo del tipo de estudio, del medio de cultivo utilizado y del tipo de población tamizada, con o sin factores de riesgo. Así en otros artículos publicados encontramos resultados diferentes, como los obtenidos en México (2005) por Romero et al, con el 0,46%; en Perú (2004) por Tamariz et al, con el 10,9%; en Nicaragua (2007) por Dubón et al, con el 11% y en Guatemala (2003) por Pereira con el 14,4%. (41) (42) (43) (44)

Aunque se han realizado tesis similares en la ciudad de Cuenca en el Hospital Regional Vicente Corral Moscoso por Sacoto-Espinoza (2003) en embarazadas entre las 31 y 41 semanas de gestación y por Berrezueta (2005) en pacientes en labor de parto, hallando prevalencias del 15,9% y 5,7% respectivamente, estos valores no podrían compararse con la presente investigación por cuanto las condiciones bajo las cuales se realizaron fueron diferentes. (45) (46)

Figura N° 1: Prevalencia de SGB en mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación.



Prevalencia de SGB en secreción vaginal e hisopado ano rectal de mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación.

Del total de pacientes portadoras de SGB, el mayor número de casos presentaron cultivos positivos tanto en secreción vaginal como en hisopado ano rectal (83,3%), mientras que solo un caso (16,7%) presentó positividad en el cultivo de hisopado ano rectal.

Tabla Nº 2. Prevalencia de SGB en secreción vaginal e hisopado ano rectal

SITIO DE COLONIZACIÓN	CASOS	%
Secreción vaginal	0	0,0%
Hisopado ano rectal	1	16,7%
Ambos sitios	5	83,3%
TOTAL	6	100,0%

Fuente: Primaria, registro de laboratorio

El porcentaje de SGB encontrado en ambas secreciones (83,3%) es superior al registrado en Chile (2003) por Valdés et al, con una prevalencia del 26,9% que corresponde a 7 cultivos positivos de 185 pacientes, al de Venezuela (2003) por Panza que arroja una prevalencia del 25,0% que perteneció a 2 cultivos positivos de 88 pacientes con factores de riesgo, y al realizado en Perú (2004) por Tamariz et al, que señala una prevalencia del 19,2% de 5 cultivos positivos en 238 gestantes. La elevada prevalencia existente en las dos secreciones podría deberse a que las pacientes participantes en el presente estudio se encontraban altamente colonizadas. (38) (40) (42)

UNIVERSIDAD DE CUENCA

La colonización por SGB solo en hisopado ano rectal fue detectada en un caso (16,7%) y no se obtuvo colonización solo a nivel vaginal. Estos resultados difieren de los encontrados en una investigación desarrollada en Nicaragua (2007) por Dubón et al, con una prevalencia de SGB del 77% en secreción vaginal y 33% en hisopado ano rectal y a un estudio efectuado en Chiapas-México (2000) por Ocampo et al con una prevalencia del 5,82% en secreción vaginal y 2,11% en hisopado ano rectal. (37) (43)

Figura N° 2: Prevalencia de SGB en secreción vaginal e hisopado ano rectal.



Relación SGB / Grupo etario

De las 6 cepas aisladas de SGB el 50% se recuperaron de pacientes cuyas edades estuvieron comprendidas entre 15 a 25 años, el 33,3% de pacientes mayores de 35 años y el 16,7% estuvieron incluidas en el grupo etario entre 26 a 35 años.

Tabla Nº 3: Prevalencia de SGB considerando la edad.

EDAD (años)	CASOS	%
15 – 25	3	50,0%
26 – 35	1	16,7%
> 35	2	33,3%
TOTAL	6	100,0%

Fuente: Primaria, registro de laboratorio

Al analizar frente al estudio publicado en Cuenca (2005) por Berrezueta (65,38%), en el presente trabajo se encontró un valor inferior de las participantes colonizadas con SGB que pertenecían al rango etario de 15 a 25 años, correspondiente al 50%. (46)

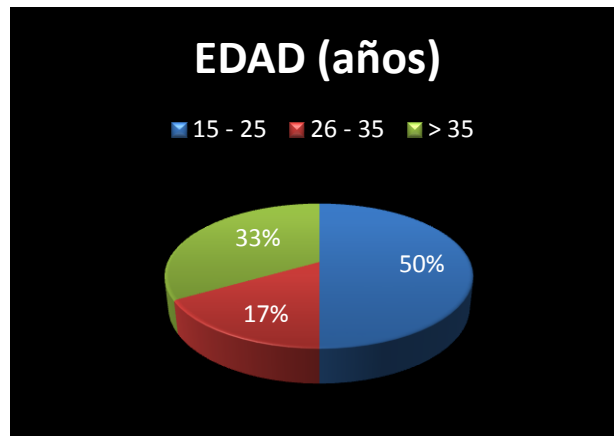
Asimismo se observaron resultados disímiles con respecto a las investigaciones llevadas a cabo en Nicaragua (2007) por Dubón et al en el cual el 63% de las participantes colonizadas por SGB tenían edades iguales o menores a 25 años. Cabe señalar que aunque con diferente rango de estudio el resultado es afín al encontrado en Venezuela (2003) por Panza en donde el 50% de las pacientes estuvo en el grupo comprendido entre los 20 a 29 años. (38) (43)

Esta mayor prevalencia en gestantes más jóvenes podría deberse a que los anticuerpos séricos contra el polisacárido capsular tipo antígeno del SGB alcanzan sus niveles más elevados a partir de los 30 años de edad; esto se explicaría por el desarrollo de niveles suficientes de anticuerpos (inmunoglobulina G) en mujeres que han tenido embarazos anteriores y más relaciones sexuales o múltiples parejas o han tenido mayor exposición al SGB a lo largo de su vida generando mayor cantidad de

UNIVERSIDAD DE CUENCA

anticuerpos. Por otra parte podría ser una consecuencia del inicio temprano de la vida sexual, tal como lo cita la literatura. (38) (42) (47)

Figura Nº 3: Prevalencia de SGB considerando la edad.



Relación SGB / Número de gestas

De los cultivos positivos para SGB el 50% se reportó en pacientes con tres o más gestas, el 33,3% en pacientes primigestas y el 16,7% en pacientes con dos gestas.

Tabla Nº 4: Prevalencia de SGB considerando el número de gestas.

NÚMERO DE GESTAS	CASOS	%
1	2	33,3%
2	1	16,7%
≥ 3	3	50,0%
TOTAL	6	100,0%

Fuente: Primaria, registro de laboratorio

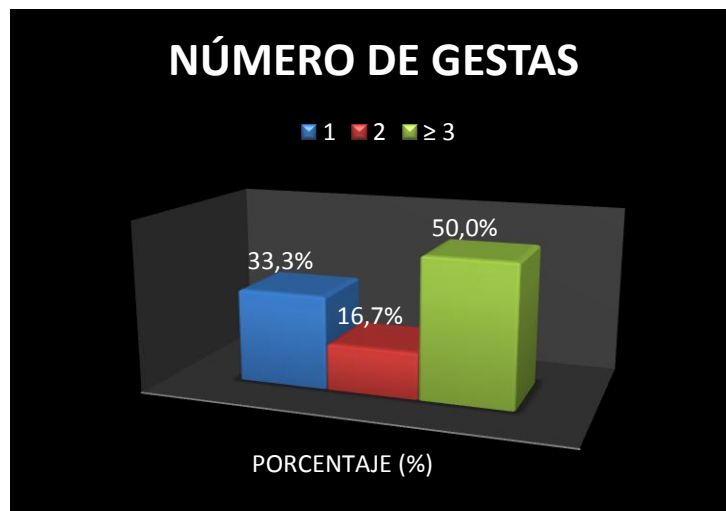
UNIVERSIDAD DE CUENCA

Al analizar el mayor porcentaje obtenido del presente estudio (50%) se observó un resultado superior al reportado en Guatemala (2003) por Pereira (16,2%), así como al reportado en Cuenca (2003) por Sacoto-Espinoza (17,3%) en pacientes multigestas.

Los resultados obtenidos también difieren considerablemente de los realizados en Nicaragua (2007) por Dubón et al, en Chiapas-México (2000) por Ocampo et al y en Venezuela (2003) por Panza los cuales presentaron cultivos positivos con mayor frecuencia en pacientes primigestas con valores del 55%, 40% y 37,5% respectivamente. (44) (43) (37) (38)

Una probable explicación de la mayor prevalencia en pacientes multigestas podría deberse a las diversas condiciones adversas a las cuales han sido expuestas en partos previos (tales como inadecuado sitio de atención, mala manipulación obstétrica, entre otros), las cuales podrían incrementar los factores de riesgo para la colonización por SGB. (37)

Figura Nº 4: Prevalencia de SGB considerando el número de gestas.



Relación SGB / Nivel de instrucción

Según el nivel de escolaridad el 50% de las pacientes colonizadas por SGB fue únicamente con un grado de bachillerato, el 33,3% perteneció al tercer nivel y el 16,7% cursó la educación básica.

Tabla Nº 5: Prevalencia de SGB considerando el nivel de instrucción.

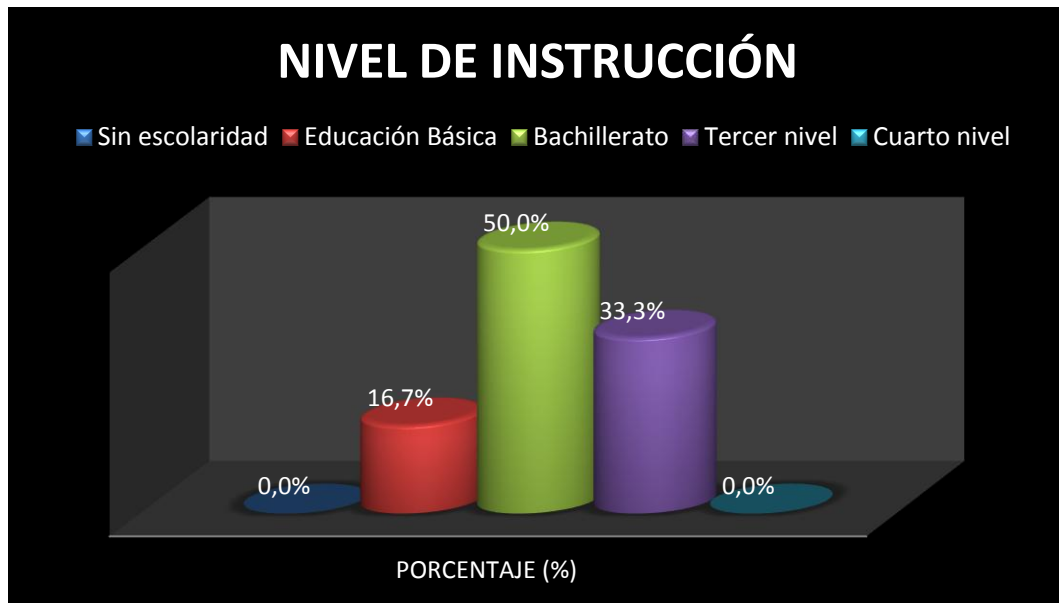
NIVEL DE INSTRUCCION	CASOS	%
Sin escolaridad	0	0,0%
Educación básica	1	16,7%
Bachillerato	3	50,0%
Tercer nivel	2	33,3%
Cuarto nivel	0	0,0%
TOTAL	6	100,0%

Fuente: Primaria, registro de laboratorio

El resultado de mayor relevancia (50%) es similar al reportado en Nicaragua (2007) por Dubón et al en pacientes con bachillerato con una frecuencia del 51%, pero difiere significativamente con respecto al trabajo citado en Cuenca (2003) por Sacoto-Espinoza en el cual se halló una prevalencia del 21,8% en pacientes con educación básica. (43)

De acuerdo a lo citado anteriormente no se podría establecer una causa aparente relacionada con la colonización por SGB en gestantes según el nivel de instrucción debido a que no es significativa la diferencia entre pacientes con tercer nivel con respecto a aquellas con bachillerato; por otra parte no existen estudios suficientes que incluyan este parámetro para corroborar dicha prevalencia.

Figura N° 5: Prevalencia de SGB considerando el nivel de instrucción.



Relación SGB / Lugar de residencia

De las 6 cepas recuperadas el 66,7% pertenecieron a pacientes del área rural mientras que el 33,3% restante se aisló de pacientes del área urbana.

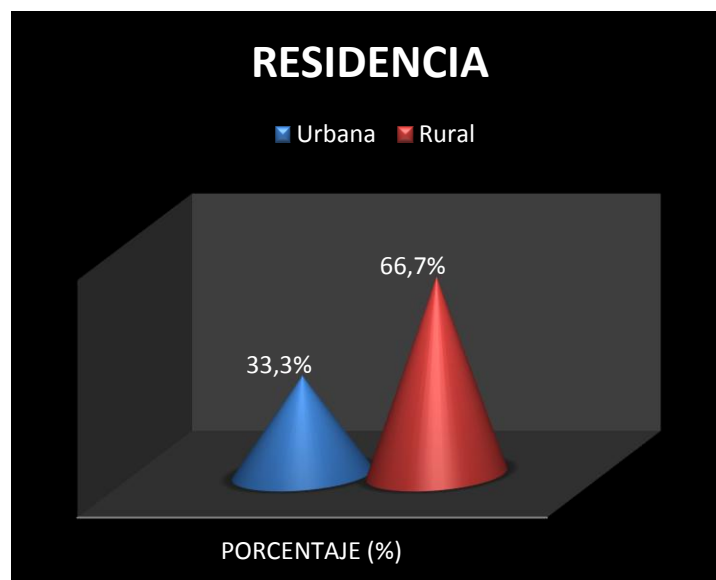
Tabla N° 6: Prevalencia de SGB considerando el lugar de residencia.

LUGAR DE RESIDENCIA	CASOS	%
Urbana	2	33,3%
Rural	4	66,7%
TOTAL	6	100,0%

Fuente: Primaria, registro de laboratorio

Al comparar los datos del presente estudio con los obtenidos en Cuenca (2003) por Sacoto-Espinoza se observa resultados diferentes según el tipo de población estudiada hallándose mayor prevalencia en gestantes del área rural (66,7%) en comparación con los hallados dicha investigación (12,5%), lo cual podría explicarse por las condiciones socioeconómicas de las pacientes.

Figura Nº 6: Prevalencia de SGB considerando el lugar de residencia.



Sensibilidad de SGB frente a los antimicrobianos

La máxima sensibilidad de las cepas recuperadas de SGB corresponde a la penicilina con un 100%, seguido de la eritromicina con 83,3% y finalmente la clindamicina con 50,0%. (Anexo 16)

Tabla N° 7: Sensibilidad de SGB frente a los antimicrobianos.

	Penicilina (10 U)		Clindamicina (2 µg)		Eritromicina (15 µg)	
	N° cepas	%	N° cepas	%	N° cepas	%
Sensible	6	100,0%	3	50,0%	5	83,3%
Resistente	0	0,0%	3	50,0%	1	16,7%
TOTAL	6	100,0%	6	100,0%	6	100,0%

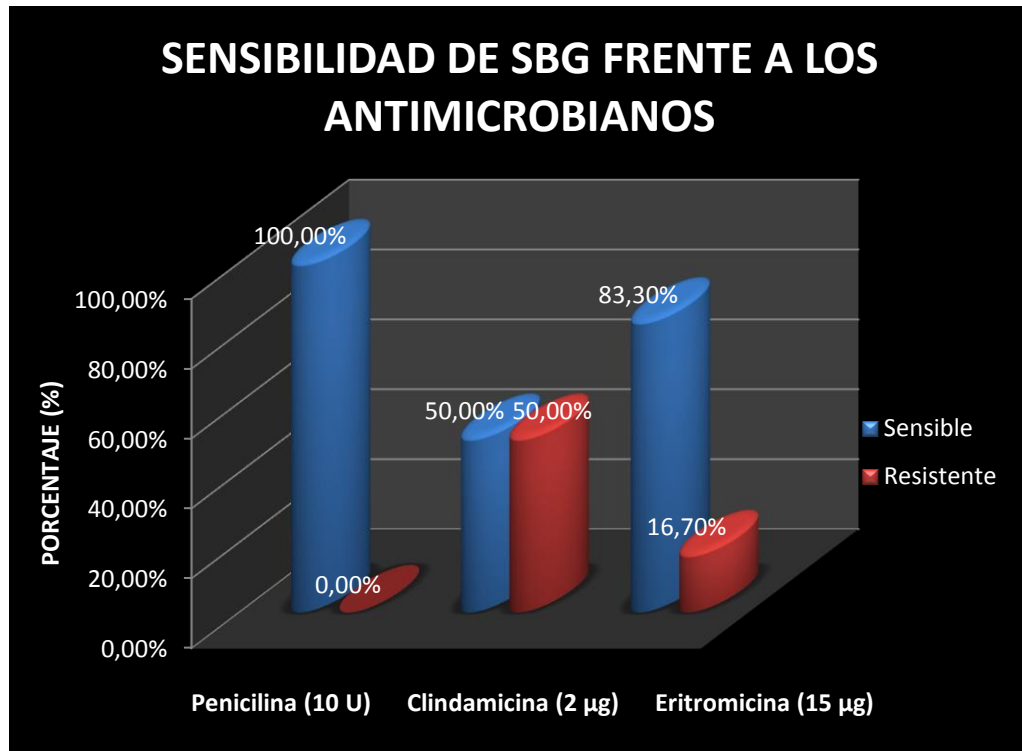
Fuente: Primaria, registro de laboratorio

De acuerdo a la literatura revisada los resultados coinciden con los obtenidos en el actual estudio en cuanto a la sensibilidad frente a la penicilina (100%), en trabajos realizados en Perú (2004) por Tamariz et al, en Guatemala (2003) por Pereira, en Chile (2003) por Valdés et al y en Brasil (2009) por Veit et al, razón por la cual la penicilina seguiría siendo el antibiótico de elección para el tratamiento de SGB. (39) (40) (42) (44)

En lo referente a la eritromicina el 83,3% de las cepas presentaron sensibilidad, resultado similar al registrado en Guatemala (2003) por Pereira y en Perú (2004) por Tamariz et al, con porcentajes del 89% y 88,5% respectivamente. (42) (44)

Frente a la clindamicina la sensibilidad obtenida (50%) es análoga a la encontrada en Brasil (2009) por Veit et al y parecida a la hallada en Nicaragua (2007) por Dubón et al, con porcentajes del 50% y 62% respectivamente. La resistencia a la clindamicina es mayor que la encontrada frente a la eritromicina, coincidiendo este resultado con la bibliografía anteriormente citada, lo cual podría ser una consecuencia del uso inadecuado de la misma en el tratamiento de infecciones de las vías urinarias. (39) (43)

Figura Nº 7: Sensibilidad de SGB frente a los antimicrobianos.



Frecuencia de otros microorganismos en secreción vaginal

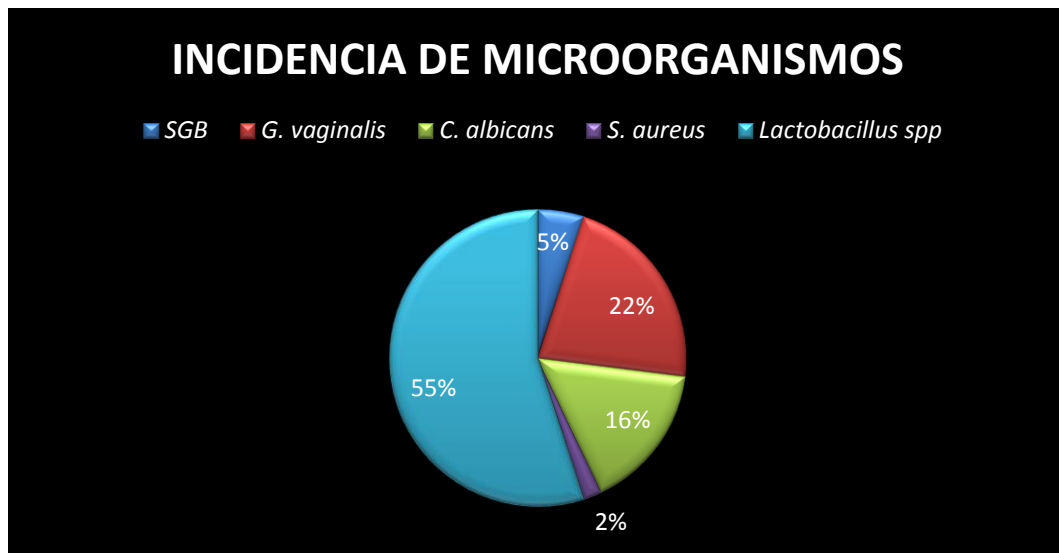
En el estudio actual existió una marcada presencia de otros microorganismos en secreción vaginal además de SGB, entre los cuales vale la pena mencionar *G. vaginalis* en un 22%, *C. albicans* en un 16%, *S. aureus* en un 2% y *Lactobacillus spp* en un 55%.

Tabla N° 8: Frecuencia de otros microorganismos en secreción vaginal

MICROORGANISMO	CASOS	%
SGB	5	5,0%
<i>G. vaginalis</i>	22	22,0%
<i>C. albicans</i>	16	16,0%
<i>S. aureus</i>	2	2,0%
<i>Lactobacillus spp</i>	55	55,0%
TOTAL	100	100,0%

Fuente: Primaria, registro de laboratorio

Figura N° 8: Incidencia de otros microorganismos en secreción vaginal





UNIVERSIDAD DE CUENCA

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en la presente investigación: “Determinación de *Streptococo beta hemolítico del grupo B* en mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas en la Fundación Pablo Jaramillo Crespo”, es posible plantear las siguientes conclusiones con respecto a las 100 muestras analizadas:

La prevalencia de SGB en mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación fue del 6%, con un nivel de confianza del 95%. Considerando este resultado se acepta la hipótesis planteada al inicio de la investigación en la cual se propuso una prevalencia inferior al 15% para SGB.

La colonización por SGB se presentó con mayor frecuencia en ambas secreciones con un porcentaje del 83,33% correspondiente a cinco pacientes; mientras que el 16,67% se aisló de una sola paciente en hisopado ano rectal.

El 50% de los cultivos positivos pertenecieron al grupo etario de 15 a 25 años, con tres o más gestas, y que cursaron el bachillerato.

El 66,7% de las pacientes portadoras habitaban en el sector rural, y la mayoría no contaban con controles prenatales periódicos durante el embarazo.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Las cepas recuperadas de SGB presentaron una sensibilidad del 100% a la Penicilina, 83,3% a la Eritromicina y 50% a la Clindamicina, valores que deben considerarse en el momento de realizar el tratamiento.

Se recuperaron también otros microorganismos a considerar en secreción vaginal tales como: *G. vaginalis* en un 22%, *C. albicans* en un 16% y *S. aureus* en un 2%.

4.2 RECOMENDACIONES

Considerando la importancia de SGB en infecciones en neonatos y púerperas y la ausencia de información sobre su prevalencia en la Clínica Humanitaria “Fundación Pablo Jaramillo Crespo” de la ciudad de Cuenca, es oportuno realizar las siguientes recomendaciones:

Implementar el cultivo rutinario para detección de SGB en pacientes embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación siguiendo las pautas del CDC.

Es importante continuar el seguimiento de gestantes portadoras de SGB antes del parto con el fin de prevenir complicaciones posteriores en el recién nacido, por la relación de colonización materna e infección neonatal.

Debido a la falta de información en Cuenca acerca de la infección producida por este microorganismo sería conveniente ampliar estudios similares que involucren el empleo de medios selectivos como el caldo Todd Hewitt que favorecen la recuperación de SGB así como de medios de transporte (Stuart) que mantienen viables los microorganismos hasta el momento de su procesamiento, a fin de conocer la real magnitud del problema a nivel de la ciudad e incluso del país.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

BIBLIOGRAFÍA

1. Bartelt, Margaret PhD. *Diagnostic Bacteriology. A Study Guide*. Arkansas : F.A. Davis Company Philadelphia, 2000.
2. Casale, Roberto, Dr., y otros, y otros. Guía de Procedimientos en Obstetricia Basados en la Evidencia. [En línea] Tercera Edición, 11 de Mayo de 2009. [Citado el: 29 de Abril de 2011.] <http://www.colmed3.com.ar/frp/obstetricia.pdf>.
3. Rigol Ricardo, Orlando. Obstetricia y Ginecología. *Biología de la vagina*. [En línea] 2004. [Citado el: 10 de Octubre de 2011.] <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-000-00---0ginecolo--00-0-0--0prompt-10---4-----0-1l--1-es-50---20-about---00031-001-1-0utfZz-8-00&a=d&c=ginecolo&cl=CL1&d=HASH01b6fb6a3c7d9c3080d0ca4b.9.7>.
4. Carballo, J. y González González, N.L. INFECCIONES DE TRANSMISIÓN VERTICAL (I). [aut. libro] J.M. Bajo Arenas, J.C. Melchor Marcos y L.T. Mercé. *Fundamentos de Obstetricia SEGO*. Madrid : Gráficas Marte, S.L., 2007.
5. Blanch, Ricardo. Anatomía del Aparato Reproductor Femenino. [aut. libro] Itic Zigelboim y Doménico Guariglia. *Clínica Obstétrica*. Tercera Edición. Caracas : DISINLIMED C.A., 2005.
6. Abad Martínez, Lorenzo, y otros, y otros. *Obstetricia y Ginecología*. Barcelona : Editorial Ariel S.A., 2004.
7. Donat Colomer, Francisco. *Enfermería Maternal y Ginecológica*. Barcelona : Elsevier-Masson, 2001.
8. Orlando Rigol, Ricardo y otros. *Rigol Obstetricia y Ginecología*. La Habana : Editorial Ciencias Médicas, 2004.
9. González-Merlo, J., González Bosquet, J. y González Bosquet, E. *GINECOLOGÍA*. Octava Edición. Barcelona : Editorial Masson S.A., 2003.
10. MOORE, KEITH L. y PERSAUD, T.V.N. *EMBRIOLOGÍA CLÍNICA*. Octava Edición. Barcelona : Editorial Elsevier , 2008.
11. Bleichmar, Juan Carlos . *GUÍA PRÁCTICA PARA LA MUJER EMBARAZADA*. Madrid : Ojos de Papel Ediciones, 2003.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

12. Planned Parenthood . EMBARAZO. *Etapas del embarazo*. [Online] Planned Parenthood Federation of America Inc., 2011. [Cited: Julio 5, 2011.] <http://www.plannedparenthood.org/esp/temas-de-salud/embarazo/etapas-del-embarazo-23953.htm>.
13. Centro de Especialidades Médicas del Sureste. Cuidados en el embarazo. *Embarazo*. [En línea] C.E.M., 2007. [Citado el: 5 de Julio de 2011.] <http://www.cemsureste.com/embarazo.htm>.
14. Forbes, Sahn y Weissfeld. *Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico*. Décimo Segunda Edición. Madrid : Editorial Médica Panamericana, 2009.
15. Lambrou, Nicholas C., Morse, Abraham N. y Wallach, Eduard E. *Johns Hopkins Ginecología y Obstetricia*. Maryland : Marbán, 2005.
16. Hospital Clínico Universidad de Chile. *OBSTETRICIA*. Santiago de Chile : s.n., 2005.
17. Seguranyes Guillot, Gloria. *ENFERMERÍA MATERNAL*. Primera Edición. Barcelona : MASSON ELSEVIER, 2000.
18. *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela*. SOCIEDAD DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA DE VENEZUELA. 1, Caracas : s.n., 2011, Vol. LXXI.
19. Edwards, Morven y Baker, Carol. Streptococcus agalactiae (estreptococos del grupo B). [aut. libro] Gerald Mandell, John Bennett y Raphael Dolin. *Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica*. Sexta Edición. Madrid : Elsevier, 2006, Vol. II.
20. Murray, Patrick R., PhD, Rosenthal, Ken S., PhD y Pfaüer, Michael A., MO. *Microbiología Médica*. Madrid : Elsevier, 2005.
21. Brooks, Geo. F., MD, Butel, Janet S., PhD y Morse, Stephen A., PhD. *Microbiología de Jawetz, Melnick y Adelberg*. Décimo Octava Edición. México D.F. : Manual Moderno, 2004.
22. Elmer , Koneman, y otros, y otros. *Koneman Diagnóstico microbiológico Texto y Atlas en color*. Sexta Edición. Buenos Aires : Editorial Médica Panamericana, 2006.
23. Llop Hernández, Alina, Md., Valdés-Dapena Vivanco, Ma. Margarita, Md. PhD y Zuazo Silva, Jorge L., MD. *Microbiología y Parasitología Médicas*. La Habana : Editorial Ciencias Médicas, 2001.

UNIVERSIDAD DE CUENCA

24. Aulet de Saab, Olga C. y De Ruiz Holgado , Aida Pesce. Estreptococos. [aut. libro] Juan Ángel Basualdo, Celia E. Coto y Ramón Alberto De Torres. *Microbiología Biomédica*. Segunda Edición. Buenos Aires : Editorial Atlante, 2006.
25. Salleras, Luis. *Vacunaciones Preventivas. Principios y Aplicaciones*. Segunda Edición. Barcelona : Masson S.A., 2004.
26. Fauci, Anthony, y otros, y otros. *Harrison Principios de Medicina Interna*. Décimo Sexta Edición. Estados Unidos : The McGraw-Hill Companies, 2005.
27. Salcedo Abizanda, S., De la Rosa Fraile, M. y Ruiz Campillo, C. W. Infección bacteriana neonatal de transmisión vertical por el estreptococo beta hemolítico del grupo B. [aut. libro] L. Cabero, D. Saldívar y E. Cabrillo. *Obstetricia y Medicina Materno-Fetal*. Madrid : Editorial Médica Panamericana, 2007.
28. De Cueto López, Marina y De la Rosa Fraile, Manuel. Control Calidad SEIMC. *Streptococcus agalactiae*. [En línea] 29 de Junio de 2001. [Citado el: 03 de Junio de 2011.] <http://www.seimc.org/control/revisiones/bacteriologia/agalac.pdf>.
29. Behrman, Kliegman y Jenson. *NELSON Tratado de Pediatría*. Décimo Séptima Edición. Madrid : Elsevier, 2004.
30. Restrepo, Ángela, y otros, y otros. *Fundamentos de Medicina Enfermedades Infecciosas*. Sexta Edición. Bogotá : Corporación para Investigaciones Biológicas, 2003.
31. Ryan, Kenneth J. Streptococci and Enterococci. [book auth.] James J., PhD Champoux, et al., et al. *Sherris MEDICAL MICROBIOLOGY An Introduction to Infectious Diseases*. United States of America : McGraw-Hill Companies, 2004.
32. Reece y Hobbins. *Obstetricia Clínica*. Tercera Edición. Madrid : Editorial Médica Panamericana, 2007.
33. Brizuela Lab. Revista bioanálisis. *Estreptococo Agalactiae Grupo B (EGB). Patógeno emergente de infección grave en neonatos y niños*. [En línea] 15 de Marzo de 2007. [Citado el: 21 de Abril de 2011.] http://www.revistabioanalisis.com/arxius/notas/Nota2_13.pdf.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

34. *Prevalencia de estreptococo grupo B (EGB) en embarazadas dominicanas*. Fernández, Josefina, et al., et al. 1, Santo Domingo : s.n., 2006, Revista Panamericana de Infectología, Vol. 8, pp. 26-32.
35. BIOMERIUX. *SLIDEX® Strepto Plus*. 2009.
36. Casale, Roberto, Dr., et al., et al. Guía de Procedimientos en Obstetricia Basados en la Evidencia. [Online] Tercera Edición, Mayo 11, 2009. [Cited: Abril 29, 2011.] <http://www.colmed3.com.ar/frp/obstetricia.pdf>.
37. *Factores asociados a la colonización por Streptococcus del grupo B en mujeres embarazadas de Los Altos, Chiapas*. Ocampo, Moisés, y otros, y otros. 5, Chiapas : s.n., Septiembre-Octubre de 2000, Vol. 2, págs. 413-421.
38. Panza, Norma. FRECUENCIA DE COLONIZACIÓN VAGINAL Y ANORRECTAL DE ESTREPTOCOCO BETA HEMOLÍTICO DEL GRUPO B EN GESTANTES CON AMENAZA DE PARTO PRETÉRMINO. HOSPITAL CENTRAL UNIVERSITARIO "DR. ANTONIO MARÍA PINEDA" BARQUISIMETO, 2003 - 2004. Barquisimeto : s.n., 2005.
39. *Colonization prevalence and susceptibility of Streptococcus Agalactiae in pregnant women at HUSM*. Veit, Adriane Regina, et al., et al. [ed.] www.sumarios.org/sites/default/files/pdfs/57438_6665.PDF. 1, Río Grande do Sul : s.n., Enero-Junio 2011, Saúde (Santa María), Vol. 36, pp. 9-14.
40. *Prevalencia de colonización por Streptococcus agalactiae (Grupo B) durante el embarazo pesquisado en medio de cultivo selectivo*. Valdés, Enrique, y otros, y otros. 2, Santiago de Chile : s.n., 2004, Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología, Vol. 69, págs. 132-135.
41. *Prevalencia de colonización por Streptococcus agalactiae en mujeres con embarazo a término*. Romero, Gustavo, et al., et al. 12, León-Guanajuato : Medigraphic Artemisa, Diciembre 2005, Revista de Ginecología y Obstetricia, Vol. 73, pp. 648-652.
42. *Colonización vaginal y anorectal por Streptococcus agalactiae en gestantes de los Hospitales Nacionales Cayetano Heredia y Arzobispo Loayza*. Tamariz, Jesús, et al., et al. 3, Lima : s.n., 2004, Revista Médica Herediana, Vol. 15, pp. 144-150.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

43. *Streptococo del grupo B en mujeres embarazadas atendidas en el Centro de Salud Primero de Mayo. Abril-Agosto 2007.* Dubón, Nancy, Altamirano, Marjorie del Socorro y Alemán, Teresa de Jesús. 2, León : Editorial Universitaria, 2008, Vol. 2, págs. 29-32.
44. Pereira, Carmen. Biblioteca Central Universidad de San Carlos de Guatemala. [En línea] Noviembre de 2003. [Citado el: 20 de Abril de 2011.] http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2186.pdf.
45. Sacoto , Catalina y Espinoza , Andrea. Prevalencia y factores de riesgo de infección por Estreptococo Grupo B en mujeres embarazadas de 34 a 41 semanas del servicio de obstetricia hospital Vicente Corral Moscoso . Cuenca : s.n., 2006.
46. Berrezueta, Lourdes. Cuenca : s.n., 2005.
47. Campodónico, Lorena, y otros, y otros. Revista chilena de obstetricia y ginecología versión On-line. *PROFILAXIS DE SEPSIS NEONATAL PRECOZ POR STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (GRUPO B) BASADA EN VACUNAS: REVISIÓN DE LA LITERATURA.* [En línea] 2008. [Citado el: 06 de Mayo de 2012.] http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75262008000600011&script=sci_arttext.
48. Villar, Hugo, Dr. Streptococcus agalactiae: Aspectos del Laboratorio. [Online] Noviembre 30, 2004. [Cited: Junio 16, 2011.] <http://www.laboratoriohidalgo.com/img/streptococcus.pdf>.
49. Panreac Química S.A. *Manual Básico de Microbiología CULTIMED.* Cuarta Edición. Madrid : s.n., 2003.
50. Moreno Guillén , Santiago y Ausina Ruiz, Vicente. *Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* Madrid : Editorial Médica Panamericana, 2006.
51. Gamazo, Carlos, López-Goñi, Ignacio y Díaz, Ramón. *Manual Práctico de Microbiología.* Tercera Edición. Barcelona : Editorial Masson S.A., 2005.
52. Prats Pastor, Guillermo. *Microbiología Clínica.* Madrid : Editorial Médica Panamericana, 2008.
53. Becton, Dickinson and Company. BBL Todd Hewitt Broth. *Información del Producto.* [En línea] Benex Limited, Marzo de 2007. [Citado el: 14 de Agosto de 2011.]



UNIVERSIDAD DE CUENCA

http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/US/L007513%2808%29%280307%29_ES.pdf.

54. Laboratorios Britania S.A. Todd Hewitt Caldo. [En línea] Britania Lab S.A., 2010. [Citado el: 14 de Agosto de 2011.] <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/toddhewittcaldo.htm>.

55. Romero Cabello, Raúl. *Microbiología y Parasitología Humana Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias*. Tercera Edición. México D.F. : Editorial Médica Panamericana, 2007.

56. Cooperación Técnica Belga (CTB). Aminoglucósidos. SEGUNDA EDICIÓN *Vademécum Farmacoterapéutico del Ecuador 2009*. Quito : Proyecto Salud de Altura, 2009. págs. 230-231.

57. MERK. *Microbiology Manual*. 12th Edition. 2002.



UNIVERSIDAD DE CUENCA



ANEXO 1



UNIVERSIDAD DE CUENCA



Clínica Humanitaria

Fundación Humanitaria Pablo Jaramillo C.

Cuenca, a 17 de mayo del 2011.

Yo, Doctor Marcelo Aguilar DIRECTOR MEDICO DE LA CLÍNICA HUMANITARIA "FUNDACIÓN PABLO JARAMILLO CRESPO"

CERTIFICO:

Que las Señoritas, Jennifer Chacón Vélez con número de cédula 1400747356 y Marcela Moreno Yanes con número de cédula 0104449277, realizarán el trabajo de investigación en el Área de Ginecología titulado **ESTREPTOCOCCO BETA HEMOLÍTICO DEL GRUPO B EN MUJERES EMBARAZADAS DE 35 A 37 SEMANAS QUE ACUDEN A LA CONSULTA PRENATAL A LA CLÍNICA HUMANITARIA "FUNDACIÓN PABLO JARAMILLO CRESPO"**.

Es todo cuanto puedo certificar, las peticionarias pueden hacer uso del mismo de la manera que crean conveniente.

Atentamente,

FUNDACIÓN HUMANITARIA
PABLO JARAMILLO CRESPO

Dr. Marcelo Aguilar

DIRECTOR MEDICO DE LA CLINICA HUMANITARIA "FUNDACION PABLO JARAMILLO CRESPO"

JENNIFER CHACÓN VÉLEZ
MARCELA MORENO YANES

UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 2**RECURSOS MATERIALES**1. Equipos

EQUIPO	MARCA	MODELO
Estufa bacteriológica	MEMMERT	A492.0702 TYP: Tv 400
Tuttnauer autoclave-steam sterilizer	TUTTNAUER	2540EK
LABCONCO PURIFIER CLASS II BIOSAFETY CABINET	LABCONCO	36204/36205 Type: A2
Balanza analítica	BOECO	BBL31
Vortex Genie 2		G-560
Mechero Bunsen		
Microscopio binocular	OLYMPUS	CX31RBSFA
Refrigeradora	DUREX	IDW14
Cocina eléctrica de dos quemadores	HACEB	EM-2

2. Reactivos

REACTIVO	MARCA
Hisopos con medio de Stuart	DELTALAB®
Caldo Todd Hewitt	LIOFILCHEM®
Sulfato de Gentamicina 20 mg/2 mL	MERK®
Agar sangre (base)	MERK®
Agar Mueller Hinton	PRONADISA CONDA®
Sangre de cordero	
SLIDEX® Strepto Plus	BIOMERIUX®
Peróxido de Hidrógeno 3%	PARACELSO®
Set de reactivos para tinción de Gram	PROMECLIN®
Solución salina 0,9% estéril	
Etanol 70%	
Hidróxido de potasio 10%	PROMECLIN®
Agua destilada estéril	
Discos de antimicrobianos: penicilina 10 U, eritromicina 15 µg, clindamicina 2 µg	BIOANALYSE®

UNIVERSIDAD DE CUENCA

Estándar 0,5 de Mac Farland

3. Cepas

CEPA CONTROL	ATCC
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923
<i>Streptococcus β-hemolítico del grupo B</i> (Donación del Hospital Homero Castanier)	
<i>Escherichia coli</i>	25922

4. Materiales varios

MATERIAL	MARCA
Jarra de Gaspak	
Probeta de 250 mL	Boeco
Erlenmeyers de 125 mL Pyrex y 500 mL	Marienfeld
Tubos tapa rosca	
Tubos de ensayo 12 x 75 mL	
Vasos de precipitación de 250 mL	Boeco
Placas portaobjetos 25,4 x 76,2 mm	VOIR
Laminillas cubreobjetos 22x22 mm	
Cajas Petri descartables 94 x 16 mm	
Asas bacteriológicas	
Pipetas automáticas de 200 µL y 20 µL	Boeco
Hisopos de madera	
Material de limpieza	

ANEXO 3

HOJA DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN DE LA PACIENTE

Código de paciente:		H.C. #	
Fecha de toma de la muestra:		Fecha de entrega de resultados:	
Teléfonos:			
DATOS DE LA PACIENTE			
Edad en años cumplidos:			
Semanas de gestación:		x FUM ____	x ECO ____
Paridad: G. ____ P. ____ C. ____ A. ____			
Nivel de instrucción:		Sin escolaridad <input type="radio"/>	Tercer Nivel <input type="radio"/>
		Educación básica <input type="radio"/>	Cuarto Nivel <input type="radio"/>
		Bachillerato <input type="radio"/>	
Lugar de residencia:		Urbana <input type="radio"/>	Rural <input type="radio"/>
Ruptura Prematura de Membranas		Sí <input type="radio"/>	No <input type="radio"/>
IVU en el tercer trimestre		Sí <input type="radio"/>	No <input type="radio"/>
Uso de antibióticos orales últimos 15 días		Sí <input type="radio"/>	No <input type="radio"/>
Uso de óvulos o cremas vaginales últimos 15 días		Sí <input type="radio"/>	No <input type="radio"/>
Lugar de controles prenatales		FHPJ <input type="radio"/>	Clínica particular <input type="radio"/>
		Hospital público <input type="radio"/>	Sin controles <input type="radio"/>
Médico tratante:			



UNIVERSIDAD DE CUENCA



ANEXO 4

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Cuenca, a _____ del 2011

Habiendo recibido y entendido las explicaciones pertinentes y el objetivo de lo que se me propone, Yo,....., con cédula de ciudadanía No., acepto voluntariamente participar en el Estudio de investigación sobre **ESTREPTOCOCO BETA HEMOLÍTICO DEL GRUPO B** que se está realizando en la Clínica Humanitaria de la “Fundación Pablo Jaramillo” y estoy dispuesta a responder todas las preguntas de la Hoja de Información y a facilitar la toma de muestras de secreción vaginal e hisopado ano-rectal. Estoy consciente que no existe ningún riesgo con las muestras que se tomarán.

Toda la información que proporcione será confidencial y sólo podrá ser conocida por las personas que trabajen en este estudio y por el médico tratante y mi identidad no podrá ser revelada.

Se me dio la oportunidad de hacer cualquier pregunta sobre el estudio y todas ellas fueron respondidas satisfactoriamente. Estoy satisfecha con esas explicaciones y las he comprendido. Al firmar este documento doy mi consentimiento de participar en este estudio como voluntaria.

Firma de la voluntaria _____

JENNIFER CHACÓN VÉLEZ
MARCELA MORENO YANES



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 5

TOMA DE MUESTRAS

Consideraciones para la recolección y la manipulación de la muestra

Las muestras se deben obtener de tal forma que se elimine o se disminuya al mínimo la posibilidad de introducir contaminantes para evitar resultados equívocos. (14)

Tanto la recolección como el transporte adecuados de una muestra al laboratorio para su análisis se consideran puntos críticos para la ratificación de un microorganismo responsable de infección. Una muestra mal recolectada puede impedir el aislamiento de agentes infecciosos importantes; al mismo tiempo, puede llevar a terapias erróneas e incluso perjudiciales en el caso de que el tratamiento se dirija contra un microorganismo comensal o contaminante.

Para ello resulta imprescindible seleccionar las muestras adecuadas para el cultivo y elegir las pruebas apropiadas para lograr la máxima eficiencia de aislamiento y detección de los microorganismos. (22)

Toma de muestra de exudado vaginal

Técnica

Colocar a la paciente en posición ginecológica; abrir suavemente los labios mayores para visualizar el orificio vaginal; insertar los hisopos estériles en el tercio inferior de la vagina, rotar y mover entre los lados durante 30 segundos antes de extraerlos.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

El primer hisopo es para el examen directo, el segundo para la tinción de Gram, ambos con mango de madera y punta de algodón; el tercer hisopo con mango de poliéster y punta de rayón para el cultivo rotular y colocar en el medio de transporte.

Toma de muestra de hisopado rectal

Técnica

Introducir el hisopo suavemente a través del esfínter anal de 3 a 5 cm. Rotar contra las criptas rectales, dejar 10-30 segundos para que se absorban los microorganismos y extraer. Se intentará evitar el contacto con materia fecal. Cuando el hisopo salga manchado de heces, deberá tomarse una nueva muestra. (48)

ANEXO 6

TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

El objetivo es mantener la muestra en condiciones lo más parecidas posible al momento de la recogida. Debe ser rápido y hay que evitar condiciones extremas (calor o frío excesivo, cambios de presión, desecación). Las muestras deben transportarse al laboratorio dentro de las 2 horas posteriores a la recolección. (14)

Medio de Transporte Stuart

I. Fundamento

Se trata de un medio no nutritivo, semisólido y reductor que previene la destrucción de los gérmenes y los mantiene en estado estacionario. Su composición salina permite conservar la muestra hasta su procesamiento.

En la formulación del medio de transporte Stuart, hay Azul de Metileno que actúa como indicador de la oxidación del medio.

II. Reactivos

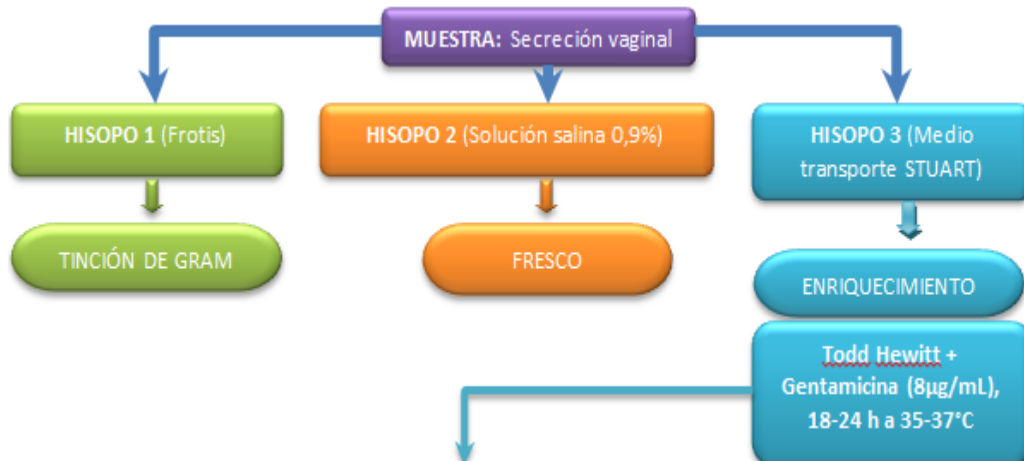
COMPOSICIÓN	g/L
Cloruro de calcio	0,1 g
Sodio glicerofosfato	10,0 g
Tioglicolato de sodio	1,0 g
Azul de metileno	0,002 g
Agar	7,0 g
Agua destilada c.s.p.	1 L
Tabla A-1. Composición del Medio de Transporte Stuart	

UNIVERSIDAD DE CUENCA

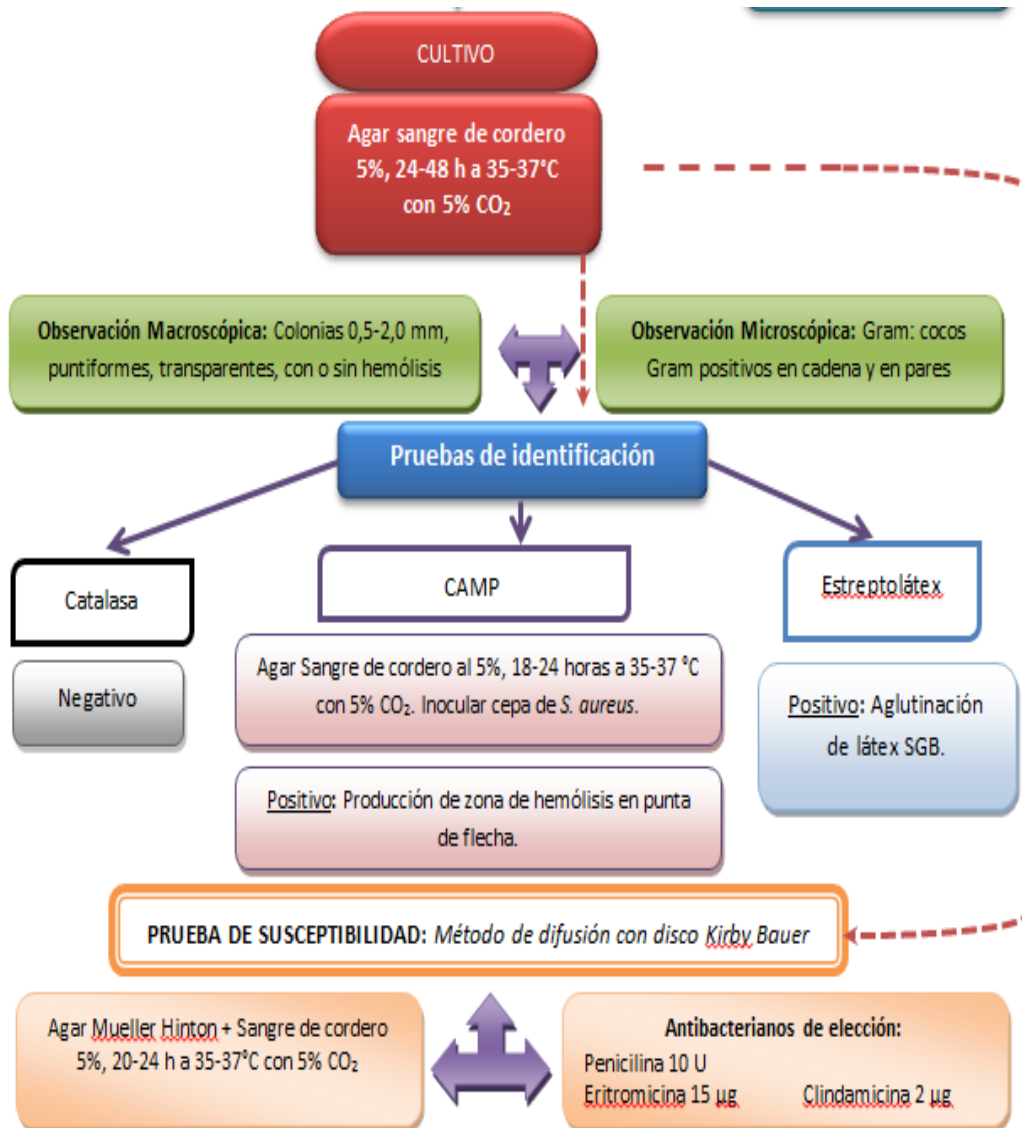
pH = $7,4 \pm 0,2$ (49)

ANEXO 7

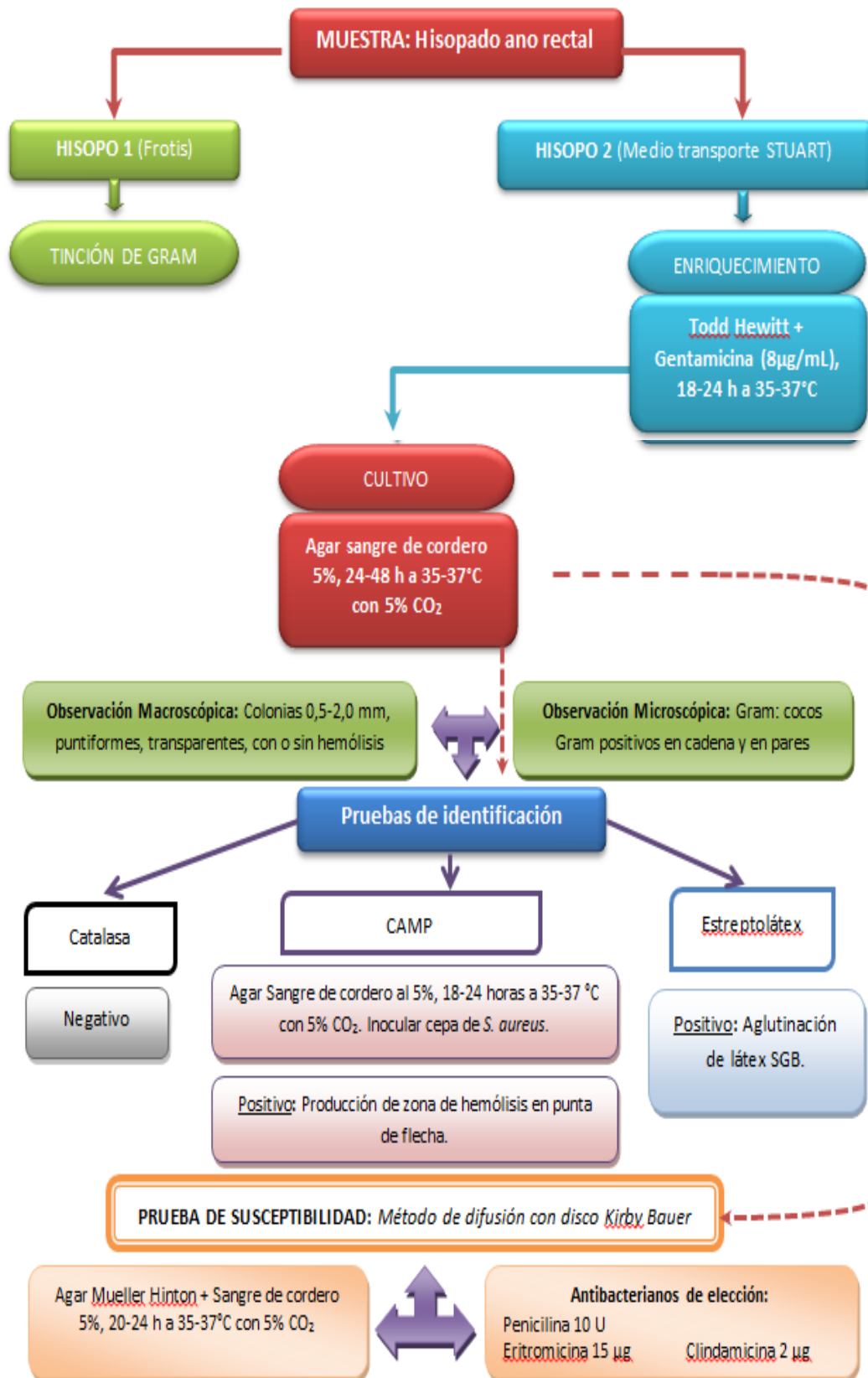
PROTOCOLO PARA EL PROCESO DE SECRECIÓN VAGINAL



UNIVERSIDAD DE CUENCA

**PROTOCOLO PARA EL PROCESO DE HISOPADO ANO RECTAL**

UNIVERSIDAD DE CUENCA





ANEXO 8

TÉCNICAS DE MICROSCOPIA

EXAMEN MICROSCÓPICO

El examen microscópico directo proporciona doble información.

Por una parte, se visualizan elementos que determinan la calidad de la muestra y si los hallazgos son significativos.

En segundo lugar, provee una información rápida sobre el tipo de microorganismo que está causando la infección, lo cual facilitará la selección de un tratamiento empírico adecuado.

Finalmente, la microscopía se utiliza para visualizar las características morfológicas de los microorganismos obtenidos en los cultivos de laboratorio. (50)

EXAMEN MICROSCÓPICO EN FRESCO

I. Fundamento

El examen en fresco posibilita la observación de microorganismos vivos y permite estudiar determinadas características como su morfología y tamaño reales, su color natural o su movimiento. (51)

II. Técnica

1. Colocar una gota de solución salina al 0,9% y posteriormente una pequeña porción de la muestra sobre el portaobjetos usando el asa de siembra previamente flameada.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

2. Colocar el cubreobjetos sobre el portaobjetos. Para evitar que se formen burbujas, depositar el cubreobjetos sobre la muestra, primero una arista y luego, lentamente, el resto.
3. Observar a través del microscopio con objetivo x40. (51)

PREPARACIÓN CON HIDRÓXIDO DE POTASIO (KOH)

I. Fundamento

La potasa facilita la disgregación de la muestra y la posterior digestión de los restos celulares pero sin afectar a las estructuras fúngicas que pueden visualizarse con mayor facilidad.

II. Técnica

1. Añadir una pequeña porción de la muestra sobre un portaobjetos.
2. Colocar una gota de KOH al 10% sobre la muestra y homogenizar la preparación.
3. La reacción es positiva para aminas si hay desprendimiento de “olor a pescado”, producto del metabolismo de las bacterias anaerobias. (22)

PREPARACIÓN DEL EXTENDIDO

Por lo general las muestras se colocan sobre el portaobjetos con el hisopo que contiene el material de la paciente. El material que se va a teñir se rota sobre la superficie de un portaobjeto limpio y seco. (14)

I. Técnica

1. Tomar un portaobjetos perfectamente limpio y desengrasado.

UNIVERSIDAD DE CUENCA

2. Si se parte de una muestra recién obtenida, con un hisopo estéril depositar una cantidad que no sea excesiva en el centro del portaobjetos y extender por rotación del hisopo en un pequeño círculo de alrededor de 1-2 cm de diámetro.
3. Si se parte de una colonia crecida en un medio sólido, depositar primero con el asa o con una pipeta Pasteur una gota de agua destilada estéril en el portaobjetos y efectuar en ella la emulsión de una pequeña porción de la colonia tomada con el asa estéril.
4. Una vez efectuada la extensión, secar la preparación a temperatura ambiente, en la estufa a 37°C o por pases rápidos por la llama, controlando que la temperatura no sea excesiva. La preparación está en condiciones de ser teñida. (22)

TINCIÓN DE GRAM

I. Fundamento

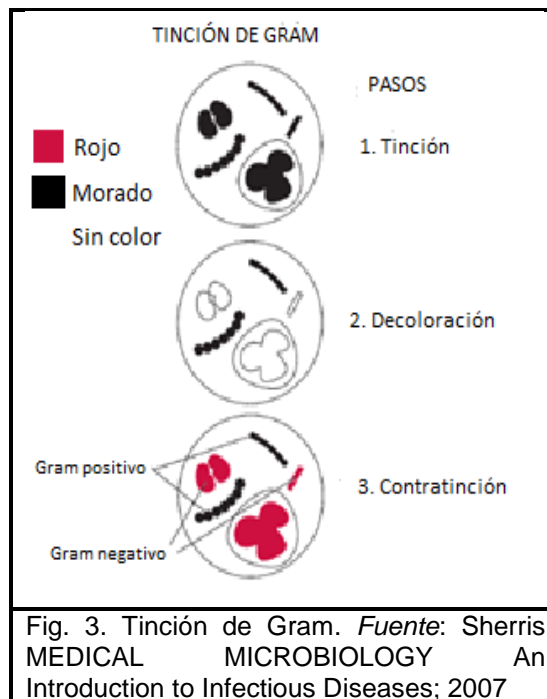
La tinción de Gram facilita la diferenciación de la estructura de la pared bacteriana. Las bacterias teñidas de azul violeta (Gram positivas), poseen grandes cantidades de ácido teicoico en sus paredes celulares (paredes gruesas de peptidoglucano); y las teñidas de rojo (Gram negativas), contienen lipopolisacáridos. Además permite distinguirlas, de acuerdo a la forma que presentan en cocos y bacilos. (23) (31) (52)

En el procedimiento para la coloración de Gram se usan cuatro reactivos diferentes.

1. El primero es una solución de Cristal violeta (cloruro de hexametil p-rosanalina), que tiñe todas las células de color azul violeta.

UNIVERSIDAD DE CUENCA

2. El segundo reactivo es una solución de Lugol (yodo-yoduro de potasio). El yoduro reemplaza al cloruro en la molécula de cristal violeta y el complejo formado se vuelve insoluble en agua. Todas las células reaccionan de igual forma.
3. La adición de un tercer reactivo, Decolorante (acetona y etanol), remueve solamente el colorante de las células Gram negativas.
4. La Safranina o Fucsina básica, colorante de contraste y cuarto reactivo empleado en el método, hace visible las células Gram negativas al teñirlas de rojo. (Fig. 3) (23)



II. Técnica

1. Preparar un frotis bacteriano.
2. Teñir con cristal violeta (1 minuto).
3. Lavar con abundante agua el exceso de colorante.

Nota: en este paso y en el resto de pasos de lavado o decoloración es esencial no arrastrar parte de la preparación en el proceso. Para evitar que ocurra esto, incline el portaobjetos y

UNIVERSIDAD DE CUENCA

aplique el agua o disolvente en su parte superior de manera que el líquido resbale lentamente sobre el frotis.

4. Cubrir con Lugol (1 minuto).
5. Lavar con agua el exceso de Lugol.
6. Lavar la preparación con alcohol-acetona hasta que observe que no puede arrastrar más colorante de la muestra (4-6 segundos).
7. Lavar con agua para eliminar los restos de disolvente.
8. Teñir con safranina (30 segundos).
9. Lavar con agua para eliminar el colorante de contraste.
10. Secar la preparación en la estufa a 37 °C.
11. Examinar al microscopio con el objetivo de inmersión (x100). (51)

III. Reactivos:

Cristal violeta (Violeta de genciana)	
Violeta de genciana	2 g
Alcohol etílico, 95%	20 mL
Oxalato de amonio	0,8 g
Agua destilada	100 mL
Yoduro de Gram	
Yoduro de potasio	2 g
Cristales de yodo	1 g
Agua destilada	100 mL
Decolorante	
Acetona	30 mL
Alcohol etílico, 95%	70 mL
Contracoloración	
Safranina O	2,5 g
Alcohol etílico, 95%	100 mL
Adicionar 100 mL al agua destilada	100 mL

Tabla A-2. Composición de la Tinción de Gram

ANEXO 9

CALDO TODD HEWITT SUPLEMENTADO CON GENTAMICINA

El caldo Todd Hewitt es un medio de enriquecimiento selectivo empleado primordialmente para el cultivo de estreptococos β -hemolíticos antes de su tipificación serológica.

Al ser suplementado con gentamicina ($8\mu\text{g/mL}$) es útil para el procesamiento de muestras genitales en mujeres embarazadas, pues se logra que la recuperación de SGB presente en dichas muestras aumente, al mismo tiempo que la flora acompañante es inhibida por el aminoglucósido. (53) (54)

I. Fundamento

El caldo Todd Hewitt es un medio altamente nutritivo debido a su contenido de peptonas (proveen la fuente de nitrógeno, vitaminas y aminoácidos) y glucosa que estimulan el crecimiento bacteriano. La glucosa además interviene en la producción de hemolisina. El fosfato y el carbonato sódico generan una acción de tampón para contrarrestar la acidez producida durante la fermentación de la glucosa, lo que evita que el ácido inactive la hemolisina. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico del medio. (53) (54)

II. Mecanismo de acción de la gentamicina

Su acción sobre la célula bacteriana es destructora (bactericida) por interferencia en la síntesis proteica a nivel de los ribosomas, mediante la unión irreversible en la subunidad 30s. (55)

UNIVERSIDAD DE CUENCA

La gentamicina actúa contra microorganismos aerobios Gram negativos, estafilococos y ciertas micobacterias, pero carece de actividad frente a la mayoría de los microorganismos Gram positivos o anaerobios. (56)

III. Reactivos

COMPOSICIÓN	
Infusión de corazón de res	500,0 g
Triptona	20,0 g
Glucosa	2,0 g
Cloruro sódico	2,0 g
Fosfato disódico	0,4 g
Bicarbonato sódico	2,0 g
Agua destilada c.s.p	1 L
Sulfato de gentamicina	0,8 µg/mL
Tabla A-3. Composición del caldo Todd Hewitt	

pH = 7,8 ± 0,2 a 25 °C

IV. Preparación

Suspender 36,4 gramos del polvo en 1 litro de agua destilada; calentar suavemente hasta completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Cuando la temperatura se encuentre alrededor de los 45°C añadir 0,8 µg/mL de sulfato de gentamicina y distribuir en tubos estériles de tapa rosca.

ANEXO 10

AGAR BASE SANGRE

I. Fundamento

El valor de pH (6,8) permite la conservación de los eritrocitos y la formación de halos hemolíticos claros. Dada la excelente base nutritiva, permite el crecimiento de prácticamente todos los microorganismos que pudieran estar presentes. Para la determinación de formas de hemólisis es conveniente añadir sangre de cordero, obtenida con ácido etilendiamino tetraacético (EDTA). (57)

II. Reactivos

COMPOSICIÓN	g/L
Infusión del Músculo Cardíaco (a partir de 375 g)	10,0 g
Peptona de Carne	10,0 g
Sodio Cloruro	5,0 g
Agar	15,0 g
Agua destilada c.s.p.	1 L
Tabla A-4. Composición de Agar base sangre	

III. Preparación

Suspender 40 g de granulado en 1 litro de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición y hervir durante 1 minuto. Esterilizar a 121 °C durante 15 minutos. Cuando la temperatura se encuentre alrededor de los 45 °C incorporar 5% de sangre de cordero obtenida con EDTA, homogenizar suavemente evitando la formación de burbujas y distribuir en placas.

ANEXO 11

TÉCNICA DE ESTRÍA-PUNCIÓN PARA EL AISLAMIENTO DE ESTREPTOCOCOS β -HEMOLÍTICOS

I. Fundamento

Se trata de un método rápido y simple de agotamiento progresivo y continuo del inóculo sobre un medio sólido contenido en una placa de Petri.

Esta técnica consiste en reseguir en zigzag la superficie del medio con el asa previamente cargada con el material a sembrar (secreción vaginal, hisopado ano rectal). El objetivo final consiste en obtener un número reducido de bacterias distribuidas individualmente sobre la superficie de la placa. Al incubar ésta (18-24 h), cada una de las bacterias originará una colonia. (52)

II. Técnica

1. Coloque frente al manipulador el mechero y la muestra que contiene los microorganismos, así como el resto del material necesario (portaobjetos, tubos, placas, etc.).
2. Transferir el inóculo a la placa mediante un hisopo en una zona de 1 cm², próxima al borde.
3. Tome el asa de siembra y flamee el filamento hasta que éste alcance un rojo incandescente. Enfríelo en la proximidad de la llama (unos 10 s). Las placas inoculadas para semicuantificación se siembran en 4 cuadrantes.
4. Extender el inóculo formando estrías muy juntas, cubriendo aproximadamente la primera mitad de la placa. El número de estrías debe ser prácticamente incontable.

UNIVERSIDAD DE CUENCA

5. Cruzar una estría sobre el inóculo original con un asa de inoculación reutilizable.
6. A continuación girar el asa en estrías sobre el cuadrante 1 un par de veces y sembrar en estrías sobre el cuadrante 2 y el resto de la zona.
7. Sembrar estrías sobre el cuadrante 3, después de cruzar un par de veces sobre el cuadrante 2.
8. Por último sembrar estrías sobre el cuadrante 4 con el asa.
9. Cuando se estría en placas de agar sangre para investigación de estreptococos, realizar punciones múltiples en las áreas de inoculación, para desenmascarar hemolisinas lábiles frente al oxígeno.
10. Flamear el asa y tapar la placa de Petri. Ésta se incubará en las condiciones adecuadas en posición invertida. (Fig. 4) (14) (51)

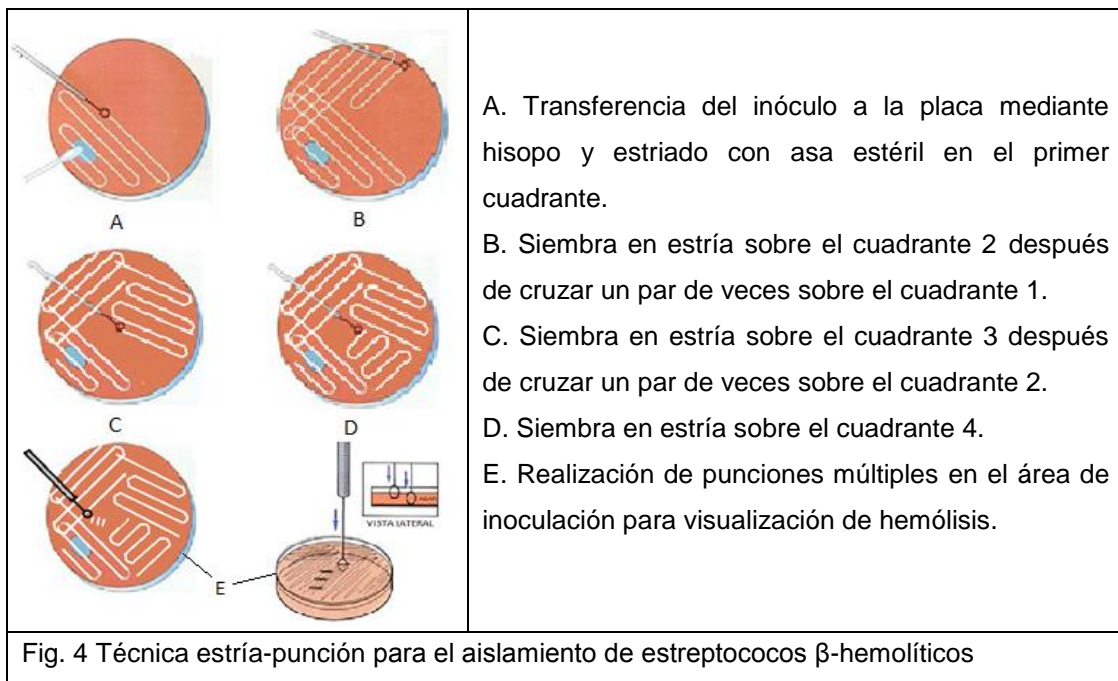


Fig. 4 Técnica estría-punción para el aislamiento de estreptococos β -hemolíticos



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 12

PRUEBA DE LA CATALASA

I. Técnica

1. Con un asa bacteriológica estéril que no sea de hierro, transferir parte del centro de una colonia a la superficie de un portaobjetos.
2. Agregar una gota de peróxido de hidrógeno al 3% y observar la formación de burbujas.

II. Reactivos

- a. Peróxido de hidrógeno al 3% almacenado en botellas color ámbar en frío.
- b. Un cultivo de 18 a 24 horas del microorganismo a probar.

III. Interpretación

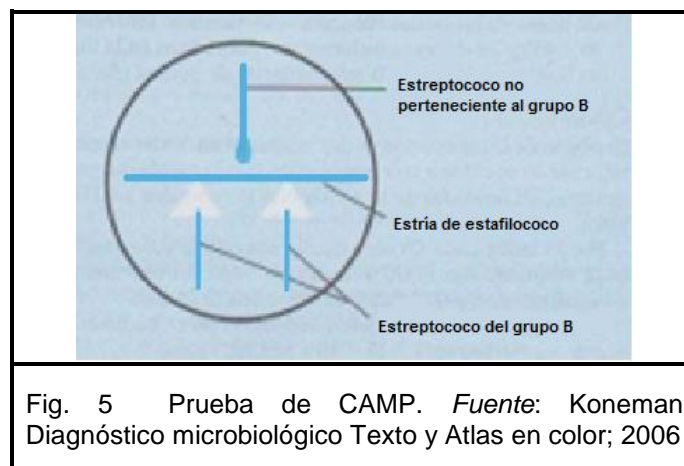
La aparición rápida y sostenida de burbujas o efervescencia constituye una reacción positiva. Debido a que algunas bacterias poseen enzimas distintas de la catalasa que pueden descomponer el peróxido de hidrógeno, la observación de unas pocas burbujas pequeñas después de 20 a 30 segundos no se considera un resultado positivo. Además, los eritrocitos poseen catalasa, por lo cual debe tenerse cuidado de no tomar eritrocitos junto con el material de la colonia. (22)

ANEXO 13

PRUEBA DE CAMP

I. Técnica

1. Hacer en el centro de la placa de agar sangre una única estría en línea recta con *S. aureus* productor de β -hemolisina.
2. Teniendo cuidado de no tocar la estría del estafilococo, realizar una estría de los estreptococos β -hemolíticos a identificar, en forma perpendicular a la estría del estafilococo. La estría de estreptococos debe ser de 3 a 4 cm de longitud. En la misma placa deben sembrarse en forma similar cepas conocidas de estreptococos del grupo A y del grupo B como controles negativo y positivo, respectivamente. (Fig. 5)
3. Incubar la placa a 37 °C en jarra de Gaspak durante 18-24 horas.



II. Interpretación

Como se ilustra en la figura anterior, se observa una zona de mayor hemólisis cuando la β -hemolisina secretada por el estafilococo y el factor CAMP secretado por el SGB se intersectan. (22)

ANEXO 14

PRUEBA DE AGLUTINACIÓN DE LÁTEX: SLIDEX® STREPTO PLUS

SLIDEX® Strepto Plus es una prueba de aglutinación de látex que permite la identificación de estreptococos de los grupos de Lancefield A, B, C, D, F y G.

I. Muestras (toma y preparación)

No se deben emplear los reactivos directamente sobre la muestra. En primer lugar se deben aislar los microorganismos a identificar sobre los medios de cultivo apropiados tras seguir las técnicas habituales.

II. Selección de las colonias

1. Sembrar la muestra sobre un medio sólido adecuado.
2. Después de 18-24 horas de incubación a 37 °C en una atmósfera enriquecida de CO₂ al 5%, escoger las colonias sospechosas. En primer lugar, comprobar si la colonia pudiera tratarse de un estreptococo mediante el uso de métodos clásicos (morfología, tinción Gram, catalasa, hemólisis).

En un contexto ginecológico, algunas cepas de *Streptococcus agalactiae* no son β -hemolíticas, pero pueden identificarse al emplear látex *Estreptococo grupo B*.

III. Modo de empleo

1. *Reconstitución*

- 1.1 Transferir 0,4 mL de enzima de extracción en un tubo de ensayo.
- 1.2 Usar cultivos procedentes de un medio sólido, escoger de 3 a 5 colonias características según su tamaño, y

UNIVERSIDAD DE CUENCA

emulsionarlos en 0,4 mL de enzima de extracción. En caso de duda sobre la pureza de la cepa, subcultivar una colonia bien aislada sobre un agar adecuado, incubar en la estufa a 37 °C durante 24 horas y realizar la prueba con este subcultivo.

- 1.3 Homogenizar en un mezclador tipo vórtex e incubar en la estufa durante 10 minutos a 37 °C. El extracto de antígeno está listo para el análisis.

IV. Identificación

1. Permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18-25 °C) al menos 10 minutos antes de su uso.
2. Resuspender los reactivos de látex. Eliminar las burbujas retenidas en el cuentagotas.
3. Registrar la referencia de la cepa sobre una tarjeta (fuera de los pocillos de reacción).
4. Agitar bien las suspensiones de látex.
5. Depositar 1 gota de cada reactivo de látex en los pocillos de reacción de la tarjeta. Cuidar que los frascos cuentagotas estén en posición vertical durante la distribución de las gotas.
6. Distribuir 20 µL de extracto al lado de cada gota de látex.
7. Mediante un bastoncito, mezclar las 2 gotas y extenderlas sobre toda la superficie del pocillo.
8. Realizar cuidadosamente un ligero movimiento de rotación con la tarjeta durante 2 minutos como máximo y leer la reacción bajo iluminación normal sin emplear una lupa.

V. Lectura e interpretación de resultados

UNIVERSIDAD DE CUENCA

- a. Un resultado positivo se manifiesta por la aparición de una aglutinación visible con un reactivo de látex en menos de 2 minutos.
- b. Un resultado negativo viene indicado por la ausencia de aglutinación: suspensión homogénea o granulación muy fina en 2 minutos.
- c. La reacción es ininterpretable cuando se observa la aglutinación en varias de las suspensiones de látex. Esto puede corresponder a una cepa poliaglutinante o a una mezcla de cepas. En este caso, realizar de nuevo el aislamiento y la prueba, o llevar a cabo la identificación mediante pruebas bioquímicas.
- d. Un resultado es no-identificable si no se observa ninguna aglutinación en ninguno de los reactivos de látex. En este caso, vuelva a realizar el aislamiento y la prueba, o haga la identificación usando pruebas bioquímicas.

La interpretación de los resultados de la prueba debería realizarse teniendo en cuenta la historia del paciente, el origen de la muestra, los aspectos macro y microscópicos de la colonia, y, si fuera necesario, los resultados de cualquier otra prueba que se haya realizado. (35)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 15

PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN CON DISCO DE KIRBY BAUER

I. Medios y reactivos

- a. Solución salina 0,9% estéril para el desarrollo del inóculo.
- b. Estándar 0,5 de Mc Farland para ajustar la turbidez del inóculo.
- c. Agitador Vórtex para la suspensión del inóculo.
- d. Placas de agar Mueller Hinton con sangre de cordero al 5%. El pH debe ser de 7,2 a 7,4 y la profundidad del agar de 4 mm aproximadamente.
- e. Calibres, regla o patrón para la medición de los diámetros de los halos de inhibición.

II. Técnica

1. Preparación del inóculo
 - 1.1 Con un asa metálica o con la punta de un hisopo, tocar la superficie de cuatro o cinco colonias bien aisladas de aspecto similar en un cultivo en placas de agar.
 - 1.2 Transferir el crecimiento a un tubo que contiene 1,5 a 2 mL de solución salina 0,9%.
 - 1.3 Agitar con energía el estándar en el vórtex inmediatamente antes de usar.
 - 1.4 Utilizar una luz adecuada para leer el tubo contra un fondo blanco con una línea negra de contraste.
 - 1.5 Si fuera necesario, agregar solución salina 0,9% en cantidad suficiente, o en su defecto añadir más colonias para ajustar al estándar.

UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.6 Dentro de los 15 minutos después de ajustar la turbidez de la suspensión del inóculo a la del estándar, sumergir un hisopo de algodón no tóxico, estéril, dentro de la suspensión del inóculo y rotarlo varias veces con una presión firme sobre las paredes laterales del tubo, para eliminar exceso de líquido. Sembrar la superficie seca de placas de agar Mueller Hinton con sangre de cordero al 5% que han sido llevadas a temperatura ambiente estriando el hisopo tres veces sobre la totalidad de la superficie del agar y rotar la placa aproximadamente 60°, para asegurarse una distribución uniforme del inóculo en toda la superficie del agar. Colocar la tapa de la placa. Dejar 3 a 5 minutos, para que se seque la superficie del agar antes de agregar los discos de antibióticos.

2. Prueba de antibióticos

- 1.1 Colocar los discos adecuados, impregnados en los agentes antimicrobianos sobre la superficie del agar, utilizando pinzas o aplicadores multidiscos.
- 1.2 Presionar con suavidad cada disco sobre la superficie del agar, que el contacto sea uniforme. No mover el disco una vez que se haya puesto en contacto con el agar, debido a que parte del fármaco se difunde casi de inmediato.
- 1.3 Los discos se distribuían de manera uniforme sobre el agar, de modo que la distancia centro a centro no sea menor de 24 mm.
- 1.4 Invertir las placas y colocarlas en la estufa a 37° C en jarra de anaerobiosis durante 16 a 18 horas.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

III. Resultados e interpretación

Medida de los diámetros de los halos: a pesar de que los halos de inhibición del crecimiento pueden aparecer temprano (4 horas después de la inoculación con algunas de las bacterias de crecimiento más rápido) y en consecuencia se hacen visibles poco después, el tiempo estándar en el cual se miden los diámetros de los halos es de 16 a 18 horas. Con el empleo de un calibre, regla o patrón se miden cuidadosamente los halos de inhibición completa del desarrollo alrededor de cada disco, al milímetro más próximo, incluyendo el diámetro del disco en esta medición. Todas las mediciones se hacen a simple vista mientras se mira el fondo de la placa de Petri con luz emitida contra un fondo negro que no refleje. La línea de visión (vertical) debe ser exactamente perpendicular al plano de la placa, para evitar cualquier paralelaje que pueda dar por resultado una lectura errónea. Las placas para determinaciones de susceptibilidad preparadas con sangre deben observarse desde la superficie del agar y las mediciones se harán sin tapa, nuevamente con luz dirigida para iluminar la placa.

En las referencias de las normas CLSI (2011) se proporciona un correlato de interpretación (sensible, intermedio o resistente). Los halos que corresponden al rango intermedio deben considerarse dudosos; si se desea el tratamiento con el fármaco, corresponde realizar una prueba de susceptibilidad por dilución para aclarar el tema. (22)

ANEXO 16**Table 2H-1 *Streptococcus* spp. B-Hemolytic Group M02 and M07 ^{a)}**

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Break Point, nearest whole mm		
			S	I	R
Penicillins A ^{b)}	Penicillin or	10 units	≥ 24	-	-
Penicillins A ^{b)}	Ampicillin	10 µg	≥ 24	-	-
Macrolides A ^{b)}	Erythromycin	15 µg	≥ 21	16-20	≤ 15
Lincosamides A ^{b)}	Clindamycin	2 µg	≥ 19	16-18	≤ 15

^{a)} Fuente: *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2011*

^{b)} Agents in Group A are considered appropriate for inclusion in a routine, primary testing panel, as well as for routine reporting of results for the specific organism groups.

UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 17**Datos generales: Cultivo Secreción Vaginal**

Cód. Paciente	Edad	Semanas Gestación	Paridad	Nivel de Instrucción	Lugar de Residencia	Microorganismo Aislado	Antimicrobiano	
							Sensible	Resistente
001	21	36	1	B	R	L	-----	-----
002	34	35	2	B	U	L	-----	-----
003	36	37	4	B	U	SGB	P DA E	Ninguno de los probados
004	24	35	2	EB	U	L	-----	-----
005	26	36,5	1	TN	U	L	-----	-----
006	18	35	2	B	U	L	-----	-----
007	29	35	1	EB	R	L	-----	-----
008	25	36	4	EB	R	Gv	-----	-----
009	42	35,6	4	B	U	L	-----	-----
010	28	37	3	EB	U	L	-----	-----
011	39	35,6	3	B	U	Ca	-----	-----
012	32	35,5	1	TN	R	Sa	-----	-----
						Gv	-----	-----
013	22	35,1	1	B	R	L	-----	-----
014	22	35,4	2	TN	R	L	-----	-----
015	28	35,1	3	EB	R	L	-----	-----
016	32	35	2	EB	U	L	-----	-----
017	24	36,1	1	TN	U	L	-----	-----
018	24	36,4	3	EB	R	Gv	-----	-----
019	31	35,4	2	B	U	L	-----	-----
020	30	35	3	B	R	L	-----	-----
021	28	36,6	4	B	U	Ca	-----	-----
022	32	35,1	4	B	U	L	-----	-----
023	28	35	3	B	U	L	-----	-----
024	23	36	1	B	U	L	-----	-----
025	40	37	5	TN	U	Sa	-----	-----
026	27	35	1	TN	U	Ca	-----	-----
027	40	35	3	B	U	L	-----	-----
028	25	37	1	B	U	L	-----	-----
029	24	36	2	TN	U	L	-----	-----
030	36	36,1	2	EB	R	Gv	-----	-----
031	27	35	2	EB	U	L	-----	-----
032	24	36,6	1	TN	U	Gv	-----	-----

UNIVERSIDAD DE CUENCA

						Ca	-----	-----
033	17	37	1	B	R	Ca	-----	-----
034	25	36	2	TN	U	Ca	-----	-----
035	32	37	3	B	R	L	-----	-----
036	19	37	1	B	R	L	-----	-----
037	29	35,1	3	EB	R	Gv	-----	-----
038	22	35,1	2	B	U	Gv	-----	-----
						Ca	-----	-----
039	32	37,2	4	EB	U	L	-----	-----
040	23	35	1	B	R	Gv	-----	-----
						Ca	-----	-----
041	20	37,2	1	B	R	L	-----	-----
042	26	35,5	3	B	U	L	-----	-----
043	27	36	2	EB	R	Ca	-----	-----
044	25	37	2	TN	R	SGB	P	DA E
045	25	35,5	2	B	U	L	-----	-----
046	27	35	1	TN	U	L	-----	-----
047	28	36,2	2	TN	U	L	-----	-----
048	22	35,5	1	TN	U	L	-----	-----
049	22	36	1	TN	U	L	-----	-----
050	28	35,2	1	TN	U	Gv	-----	-----
051	27	35	2	TN	U	L	-----	-----
052	26	37	1	B	U	L	-----	-----
053	30	35	2	B	U	L	-----	-----
054	30	35,2	1	TN	U	Gv	-----	-----
						Ca	-----	-----
055	19	35	1	B	U	L	-----	-----
056	27	36,1	2	B	U	Gv	-----	-----
057	26	37,2	1	B	R	Gv	-----	-----
						Ca	-----	-----
058	16	37	1	B	U	L	-----	-----
059	40	35,1	4	B	U	L	-----	-----
060	25	35	4	EB	R	L	-----	-----
061	30	36,4	3	EB	R	L	-----	-----
062	23	35	1	TN	U	Gv	-----	-----
063	23	36	1	B	R	Gv	-----	-----
						Ca	-----	-----
064	31	37	3	EB	U	L	-----	-----
065	20	35,2	1	B	U	Gv	-----	-----
						Ca	-----	-----

UNIVERSIDAD DE CUENCA

066	35	35,1	2	B	U	Ca	-----	-----
067	19	36	1	B	R	L	-----	-----
068	22	36	1	TN	U	L	-----	-----
069	30	36,5	2	B	U	Gv	-----	-----
070	30	35,1	2	TN	U	L	-----	-----
071	20	37	1	B	U	L	-----	-----
072	36	35,1	3	B	R	L	-----	-----
073	18	35,1	1	B	U	Gv	-----	-----
074	25	36,5	2	EB	U	L	-----	-----
075	20	35	1	TN	U	L	-----	-----
076	26	35	2	TN	U	L	-----	-----
077	28	37	2	B	R	Gv	-----	-----
078	25	37	3	B	R	Ca	-----	-----
079	15	35,1	1	B	U	L	-----	-----
080	31	36	1	TN	U	SGB	P E	DA
081	18	36	1	B	U	L	-----	-----
082	26	36	1	TN	U	L	-----	-----
083	20	36,6	1	EB	R	SGB	P E	DA
084	32	36,5	3	TN	U	L	-----	-----
085	21	35,1	1	EB	U	L	-----	-----
086	27	37,3	2	EB	R	L	-----	-----
087	26	36	1	B	U	Gv	-----	-----
088	19	36	1	B	U	Ca	-----	-----
						L	-----	-----
089	36	36	3	B	R	SGB	P DA E	Ninguno de los probados
090	21	37,2	1	TN	U	L	-----	-----
091	33	35	2	B	U	Gv	-----	-----
092	26	36	1	TN	U	L	-----	-----
093	22	35,5	1	TN	R	L	-----	-----
094	36	36	2	TN	R	L	-----	-----
095	29	36,1	3	B	R	L	-----	-----
096	30	36,2	4	EB	R	Gv	-----	-----
097	24	36	1	EB	R	L	-----	-----
098	32	37,2	3	EB	U	Gv	-----	-----
099	15	36	1	B	R	L	-----	-----
100	26	36	1	TN	U	L	-----	-----

EB: educación básica; B: bachillerato; TN: tercer nivel; U: urbana; R: rural; L: *Lactobacillus spp.*; Ca: *Cándida albicans*; Sa: *Staphylococcus aureus*; Gv: *Gardnerella vaginalis*; P: penicilina; DA: clindamicina; E: eritromicina

UNIVERSIDAD DE CUENCA

Datos generales: Cultivo Hisopado Ano rectal

Cód. Paciente	Edad	Semanas Gestación	Microorganismo Aislado	Antimicrobiano	
				Sensible	Resistente
001	21	36	FH	-----	-----
002	34	35	FH	-----	-----
003	36	37	SGB	P DA E	Ninguno de los probados
004	24	35	FH	-----	-----
005	26	36,5	FH	-----	-----
006	18	35	FH	-----	-----
007	29	35	FH	-----	-----
008	25	36	FH	-----	-----
009	42	35,6	FH	-----	-----
010	28	37	FH	-----	-----
011	39	35,6	FH	-----	-----
012	32	35,5	FH	-----	-----
013	22	35,1	FH	-----	-----
014	22	35,4	FH	-----	-----
015	28	35,1	FH	-----	-----
016	32	35	FH	-----	-----
017	24	36,1	FH	-----	-----
018	24	36,4	FH	-----	-----
019	31	35,4	FH	-----	-----
020	30	35	FH	-----	-----
021	28	36,6	FH	-----	-----
022	32	35,1	FH	-----	-----
023	28	35	FH	-----	-----
024	23	36	FH	-----	-----
025	40	37	FH	-----	-----
026	27	35	FH	-----	-----
027	40	35	FH	-----	-----
028	25	37	FH	-----	-----
029	24	36	FH	-----	-----
030	36	36,1	FH	-----	-----
031	27	35	FH	-----	-----
032	24	36,6	FH	-----	-----
033	17	37	FH	-----	-----
034	25	36	FH	-----	-----

UNIVERSIDAD DE CUENCA

035	32	37	FH	-----	-----
036	19	37	FH	-----	-----
037	29	35,1	FH	-----	-----
038	22	35,1	FH	-----	-----
039	32	37	FH	-----	-----
040	23	35	FH	-----	-----
041	20	37	FH	-----	-----
042	26	35,5	FH	-----	-----
043	27	36	FH	-----	-----
044	25	37	SGB	P	DA E
045	25	35,5	FH	-----	-----
046	27	35	FH	-----	-----
047	28	36,2	FH	-----	-----
048	22	35,5	FH	-----	-----
049	22	36	FH	-----	-----
050	28	35,2	FH	-----	-----
051	27	35	FH	-----	-----
052	26	37	FH	-----	-----
053	30	35	FH	-----	-----
054	30	35,2	FH	-----	-----
055	19	35	FH	-----	-----
056	27	36,1	FH	-----	-----
057	26	37	FH	-----	-----
058	16	37	FH	-----	-----
059	40	35,1	FH	-----	-----
060	25	35	FH	-----	-----
061	30	36,4	FH	-----	-----
062	23	35	FH	-----	-----
063	23	36	FH	-----	-----
064	31	37	FH	-----	-----
065	20	35,2	FH	-----	-----
066	35	35,1	FH	-----	-----
067	19	36	FH	-----	-----
068	22	36	FH	-----	-----
069	30	36,5	FH	-----	-----
070	30	35,1	FH	-----	-----
071	20	37	FH	-----	-----
072	36	35,1	FH	-----	-----
073	18	35,1	FH	-----	-----
074	25	36,5	FH	-----	-----

UNIVERSIDAD DE CUENCA

075	20	35	FH	-----	-----
076	26	35	FH	-----	-----
077	28	37	FH	-----	-----
078	25	37	SGB	P DA E	
079	15	35,1	FH	-----	-----
080	31	36	SGB	P E	DA
081	18	36	FH	-----	-----
082	26	36	FH	-----	-----
083	20	36,6	SGB	P E	DA
084	32	36,5	FH	-----	-----
085	21	35,1	FH	-----	-----
086	27	37	FH	-----	-----
087	26	36	FH	-----	-----
088	19	36	FH	-----	-----
089	36	36	SGB	P DA E	-----
090	21	37	FH	-----	-----
091	33	35	FH	-----	-----
092	26	36	FH	-----	-----
093	22	35,5	FH	-----	-----
094	36	36	FH	-----	-----
095	29	36,1	FH	-----	-----
096	30	36,2	FH	-----	-----
097	24	36	FH	-----	-----
098	32	37,2	FH	-----	-----
099	15	36	FH	-----	-----
100	26	36	FH	-----	-----
FH: flora habitual; P: penicilina; DA: clindamicina; E: eritromicina					



UNIVERSIDAD DE CUENCA

GLOSARIO

- **Glándulas de Bartholino:** son dos glándulas muy pequeñas situadas en la cara posterior lateral del vestíbulo vaginal que secretan moco el cual ayuda a lubricar los labios vaginales durante la función sexual.
- **Glándulas de Skene:** son dos glándulas situadas en la parte anterior, a cada lado del meato de la uretra femenina.
- **Conductos galactóforos:** cada uno de los conductillos de la glándula mamaria por los que se excreta la leche.
- **Tubérculos de Morgagni:** cada uno de los diversos nódulos pequeños y blandos situados en la superficie de las areolas de las mujeres. Están constituidos por grandes glándulas sebáceas inmediatamente por debajo de la superficie areolar.
- **Lanugo:** vello que recubre el cuerpo fetal y que desaparece casi en su totalidad al final de la vida intrauterina.
- **Surfactante:** el surfactante reduce en forma significativa la tensión superficial dentro del alvéolo pulmonar, previniendo el colapso durante la espiración.
- **Células germinales:** célula del organismo que sufre el proceso de meiosis.
- **Autólisis:** Proceso anaeróbico de degradación de los constituyentes bioquímicos de la célula por la acción de las propias enzimas intracelulares.
- **Bacilos de Döderlein:** son bacilos Gram positivos aeróbicos facultativos que colonizan la vagina constituyéndose en el principal

UNIVERSIDAD DE CUENCA

componente de la flora bacteriana normal. Son microorganismos probióticos utilizados para restablecer el equilibrio ecológico de la vagina, debido a su capacidad de adherirse a la mucosa inhibiendo el crecimiento de gérmenes patógenos, metabolizando la glucosa y obteniendo ácido láctico que mantiene un pH vaginal bajo (3,5-4,5)

- Diastasa: Enzima que cataliza la hidrólisis incompleta del almidón.
- Gonococia: Infección de transmisión sexual, que afecta habitualmente a la uretra y vagina, pero que puede afectar al epidídimo, glándulas uretrales, trompas, faringe, recto y conjuntiva, producida por el diplococo *Neisseria gonorrhoeae*.
- Exudado vaginal: líquido extravasado en una inflamación por alteración de la permeabilidad vascular y que, por tanto, es rico en elementos del plasma sanguíneo, incluyendo elementos formes (eritrocitos).
- Células parabasales: son células de forma oval o redonda con núcleo aparente y pequeña cantidad de citoplasma que se desprenden de la capa de células germinales cercana a los vasos sanguíneos.
- Células clave: son células características de *G. vaginalis*
- Ácido hialurónico: glicosaminoglicano no sulfatado y no unido a proteínas, que posee alrededor de 2.500 unidades repetitivas de N-acetil-glucosamina y ácido glucurónico. Actúa como medio lubricante en las articulaciones y da plasticidad y turgencia a los tejidos conectivos.
- Peptidoglucano: Cadenas de aminoazúcares unidas entre sí por péptidos de bajo número de aminoácidos, para formar una trama que



UNIVERSIDAD DE CUENCA

rodea a la membrana plasmática y da forma y resistencia osmótica a la bacteria.

- **Ácido teicoico:** estructura polisacárida, polímeros de glicerol o ribitol fosfato, presente en la pared celular de las bacterias Gram positivas, con funciones de adherencia.
- **Hemolisina:** cualquiera de las numerosas sustancias que origina la lisis de los hematíes, liberando hemoglobina.
- **Ácido siálico:** Azúcar que se incorpora a proteínas o lípidos durante el proceso de glicosilación en las células. Confiere carga negativa a las células y actúa como señalizador intercelular.
- **Endometritis:** Infección que afecta a la mucosa endometrial. La más frecuente se produce después de un aborto, aunque también puede aparecer después de un parto.
- **Aborto séptico:** aborto espontáneo o provocado que sufre una complicación infecciosa y progresa a un cuadro de sepsis.
- **ATTC:** American Type Culture Collection.