

UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

RED BIBLIOTECARIA MATÍAS

DERECHOS DE PUBLICACIÓN

Basados en

El Reglamento de Graduación de la Universidad Dr. José Matías Delgado

Capítulo VI, Art. 46

“Los documentos finales de investigación serán propiedad de la Universidad para fines de divulgación”

Publicado bajo la licencia Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual de Creative Commons
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>



Se permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra siempre que se especifique el autor y el nombre de la publicación y sin objetivos comerciales, y también se permite crear obras derivadas, siempre que sean distribuidas bajo esta misma licencia

Para cualquier otro uso se debe solicitar el permiso a la Universidad

UNIVERSIDAD “DR. JOSE MATIAS DELGADO”
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DR. LUIS EDMUNDO VASQUEZ
ESCUELA DE MEDICINA

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN
PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
DOCTOR EN MEDICINA

Diagnostico de Vaginosis Bacteriana y
Aislamiento de *Streptococcus agalactiae* en
Mujeres Embarazadas del Hospital Nacional de
Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán” El
Salvador, Noviembre 2011 a Enero 2012

AUTORES

José Francisco López Escobar
Raúl José Madrid Zepeda

ASESOR

Lic. María Teresita Bertoli de Masferrer

AÑO 2011

AGRADECIMIENTO

La realización de esta investigación fue posible gracias a la confluencia de personas excepcionales que nos apoyaron en cada paso de la realización de este proyecto.

A esas personas nuestros más sinceros agradecimientos ya que sin ellas este proyecto no existiría:

- A Nuestros Padres y Familia quienes nos apoyaron en cada paso del este largo camino.
- A Dios por haber permitido la realización de este proyecto
- A nuestras familias por brindarnos su apoyo incondicional durante todo este proceso
- A nuestra abnegada asesora de tesis, Lic. María Teresita Bertolli de Masferrer
- A la Dra. Elizabeth Rodríguez de Viana que sin su apoyo este estudio no se hubiese llevado a cabo.
- Al Hospital Nacional de Maternidad por abrir las puertas para nuestra investigación
- Al equipo de Perinatología de la consulta de Detección de Riesgo del HNM
- A Guillermo López, alumno de la Facultad de Medicina de la UJMD, nuestro agente en el campo.
- Al personal del Laboratorio de Microbiología de la UJMD
- A nuestra Universidad “Dr. José Matías Delgado”.

José López y Raúl Madrid

Dedicatoria

En primer lugar agradecer a Dios todo poderoso que nos ha conservado con vida, con salud, y con los conocimientos para poder realizar esta meta. A mi esposa, Adriana por su incondicional apoyo durante mi formación; a mis padres por haberme guiado, apoyado y aconsejado durante toda mi vida y a toda mi familia por su soporte. Todos han sido fundamentales en mi formación personal y profesional.

Gracias

José Francisco López Escobar

Dedicatoria

A Dios que me ha permitido tener una familia que me ha apoyado en cada paso de estos ocho años. A mi madre quien ha estado siempre a mi lado aconsejándome y apoyándome durante esta etapa de mi vida. A mis abuelos que agradezco a Dios por permitirme poder dedicarles este triunfo y a todas aquellas personas que de alguna manera influyeron en mi vida y ayudaron a forjar mi camino y mi futuro. Para ustedes este esfuerzo.

Gracias.

Raúl José Madrid Zepeda

Tabla De Contenidos

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	7
II. JUSTIFICACIÓN Y USO DE RESULTADOS	9
III. OBJETIVOS	11
I. OBJETIVO GENERAL.....	11
I.I OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
IV. MARCO TEÓRICO	12
4.1 MICROBIOTA O FLORA VAGINAL	12
4.2 VAGINOSIS BACTERIANA.....	13
4.3 DIAGNÓSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA.....	15
4.4 STREPTOCOCCUS AGALACTIAE: UN PATÓGENO OPORTUNISTA DE LA FLORA VAGINAL.....	17
4.4.1 ENFERMEDAD NEONATAL TEMPRANA	18
4.4.2 PATOGÉNESIS.....	18
4.4.3 FACTORES DE RIESGO.....	20
4.5 DIAGNÓSTICO E IDENTIFICACIÓN DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (GBS)	20
4.5.1 AISLAMIENTO INICIAL DE <i>STREPTOCOCCUS AGALACTIAE</i>	20
4.5.2 IDENTIFICACIÓN PRESUNTIVA DE <i>STREPTOCOCCUS AGALACTIAE</i>	21
4.5.3 IDENTIFICACIÓN DEFINITIVA DE <i>STREPTOCOCCUS AGALACTIAE</i>	22
4.5.3.1 FACTOR CAMP:	22
4.5.3.2 AUSENCIA DE HIDRÓLISIS DE PYR:	23
4.5.3.3 PRODUCCIÓN DE PIGMENTOS:	24
4.6 PREVENCIÓN DE LA ENFERMEDAD NEONATAL POR GBS	25
V. MATERIALES Y MÉTODOS	27
5.1 TIPO DE ESTUDIO.....	27
5.2 UNIVERSO DE TRABAJO	27
5.2.1 POBLACIÓN	27
5.2.2 MUESTRA.....	27
5.2.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	28
5.3 DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES	28
5.4 RECOLECCIÓN DE DATOS Y MANEJO DE LAS MUESTRAS.	31
5.4.1 COLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN	31
5.4.2 TÉCNICA DE TOMA DE MUESTRA.....	32
5.4.3 MEDIOS DE TRANSPORTE Y MANEJO DE MUESTRAS	33
I. EVALUACIÓN DEL MEDIO DE TRANSPORTE.....	33
II. CONCENTRACIÓN DE ANTIBIÓTICOS.....	34

<u>III. MANEJO DE LAS MUESTRAS RECOLECTADAS</u>	36
5.4.4 IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA DE COLONIAS SOSPECHOSAS A <i>STREPTOCOCCUS AGALACTIAE</i> ...	36
5.4.5 DIAGNOSTICO DE VAGINOSIS	40
5.4.6 ASPECTOS ÉTICOS A TENER EN CUENTA EN LAS INVESTIGACIONES CON SERES HUMANOS	43
5.5 REPORTE DE LOS RESULTADOS	43
<u>VI. RESULTADOS</u>	44
6.1 ANTECEDENTES GINECO-OBSTÉTRICOS DE LA POBLACIÓN	46
6.2 DATOS SOBRE EMBARAZO ACTUAL	47
6.2.1 AISLAMIENTO DE <i>STREPTOCOCCUS AGALACTIAE</i> EN LA POBLACIÓN ESTUDIADA	48
6.2.2 IMPACTO ECONÓMICO DEL DIAGNOSTICO DE GBS	51
6.2.3 COLONIZACIÓN CON GBS E IMPLICACIONES CLÍNICAS	52
6.2.4 IMPLICACIONES CLÍNICAS DEL DIAGNÓSTICO DE VB	53
<u>VII. DISCUSIÓN</u>	56
7.1 AISLAMIENTO DE <i>STREPTOCOCCUS AGALACTIAE</i> EN LA POBLACIÓN ESTUDIADA	56
7.2 COLONIZACIÓN CON GBS E IMPLICACIONES CLÍNICAS	59
7.2.1 IMPACTO ECONÓMICO DEL DIAGNOSTICO DE GBS	60
7.3 DIAGNOSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA	60
<u>VIII. CONCLUSIONES</u>	62
<u>IX. RECOMENDACIONES</u>	64
<u>X. BIBLIOGRAFIA</u>	65
<u>XI ANEXOS</u>	72
11.1 ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO	73
11.2 ANEXO 2. ENTREVISTA	74
11.3 ANEXO 3. TARJETA DE IDENTIFICACIÓN	75

I. Planteamiento del Problema

El cuerpo humano es un complejo ecosistema formado por 10% células humanas y 90% de microorganismos. Estos dos componentes trabajan de forma integrada para permitir el funcionamiento de los sistemas del cuerpo(1).

La vaginosis bacteriana, que no es más que una consecuencia del desbalance de este delicado y complejo equilibrio, se ha identificado como una de las causas más comunes de consulta ginecológica en la mujer en edad reproductiva; y tiene una mayor incidencia en mujeres embarazadas. Esta es considerada en este último grupo un factor de riesgo para parto prematuro(2).

Streptococcus agalactiae (conocido también como Estreptococo Beta Hemolítico Grupo B o GBS por sus siglas en inglés) es una bacteria que puede habitar el trato genital femenino y el recto, con tasas de colonización que oscilan entre el 30% (Jordania) y 2.9 % (Japón)(3). Esta bacteria, que no es patógena en los adultos, es la principal causa de morbi-mortalidad neonatal temprana en países desarrollados como EEUU, lo cual llevó a la creación de las Guías Clínicas del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) para la Prevención de la Enfermedad Perinatal por Estreptococcus del Grupo B ("*CDC. Prevention of perinatal Group B Streptococcal disease: a public health perspective*"). La guía tiene como objetivo prevenir las consecuencias en los neonatos de las infecciones con esta bacteria, durante su paso por la vagina al momento del parto, así como de las secuelas producidas por la sepsis o meningitis(4).

En países de la región Centroamericana, como Nicaragua y Guatemala se han realizado investigaciones en este campo, obteniendo una incidencia de colonización por GBS en embarazadas de 9.5 % (3) para el primero y de 15 % (5) para el segundo.

En El Salvador, Flores Ramos *et al.*, en el Hospital Nacional de Santiago de María, reportaron una prevalencia de 4.88% de mujeres colonizadas con GBS de una población de 40 pacientes; Pérez Cruz *et al.*, en el Hospital Nacional de San Francisco Gotera, Departamento de Morazán, reporto en 2006 una prevalencia de 2.22% de mujeres colonizadas de una muestra de 40 pacientes; sin embargo no se realiza de manera sistemática la detección de GBS y su respectivo tratamiento en nuestro país; tampoco existen datos acerca la prevalencia existente en mujeres embarazadas atendidas en hospitales de tercer nivel; sobre la incidencia de vaginosis bacteriana en mujeres atendidas en hospitales de 2do nivel., en 2006 se realizo un estudio de tesis en el Hospital Nacional "DR. HÉCTOR ANTONIO HERNÁNDEZ FLORES" del municipio de San Francisco Gotera, departamento de Morazán en los cuales se encontró una prevalencia de vaginosis bacteriana del 47.22% de las pacientes atendidas entre los meses de julio a septiembre del 2006.(6)

Viendo la necesidad de tener conocimiento acerca del estado actual de estas condiciones en las mujeres que asisten al Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán” (HNM) es que dicho hospital ha mostrado interés en que el siguiente protocolo se realice con su población. Por lo que nos planteamos la siguiente pregunta: ¿Cuál es frecuencia de la vaginosis bacteriana y del aislamiento de GBS en una población de mujeres embarazadas atendidas en la Consulta de Detección de Riesgo del Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán”?

II. Justificación y uso de resultados

El parto prematuro, definido como el parto antes de las 37 semanas de gestación ocurre en alrededor de 5 a 10% de los embarazos a nivel mundial constituyendo así un problema de salud pública de gran escala; tanto la vaginosis bacteriana como la colonización y/o infección materna por GBS se han relacionado como posibles causantes de este problema.(7)

De acuerdo a las estadísticas llevadas por el Ministerio de Salud de El Salvador (MINSAL), en el año 2008 el total de partos a nivel del MINSAL fue de 54, 800, de los cuales 14,787 se atendieron en el Hospital Nacional de Maternidad. Para el año 2010 en el Hospital Nacional Maternidad se atendió un total de 13,335 partos, de estos 2,471 fueron partos pre termino (18.5%), de los cuales 161(6.5%) fueron mortinatos (estadística según ESDOMED – HNM).

Desde hace dos décadas en países desarrollados, se han dado importantes avances a nivel preventivo, buscando disminuir la morbi-mortalidad de los recién nacidos prematuros, sobre todo mediante la prevención de la afección neonatal por GBS: la utilización de la terapia antibiótica intraparto junto con los avances hechos en el campo de neonatología han llevado a una drástica disminución de la mortalidad neonatal. Sin embargo, el GBS continúa siendo una de las causas más importantes de infección neonatal a nivel mundial.(8) Se han hecho importantes avances para tratar de entender la patogénesis y relación del GBS con su hospedero.

Debido a las medidas tomadas por el Centro para el Control y Prevención de enfermedades (CDC), como la detección temprana de GBS y un tratamiento oportuno de bajo costo y bajo riesgo, en los años '90 se obtuvo una reducción de la mortalidad de los neonatos que osciló entre 4-6%.(4)

De acuerdo a las estadísticas llevadas por el Departamento de Estadística y Documentos Médicos del Hospital Nacional de Maternidad (ESDOMED HNM), la tasa de mortalidad neonatal se ha reducido desde un 15.16% en 1997 hasta un 8.91%, probablemente debido a la implementación de antibioterapia intraparto en aquellas pacientes con factores de riesgo, pero aún falta mucho por hacer para lograr disminuir la muerte neonatal en nuestro país debido principalmente a otro tipo de causas como malformaciones congénita.

A pesar del conocimiento mundial que se tiene sobre las consecuencias que la colonización materna por GBS puede tener en el resultado del embarazo, en nuestro país no existen estadísticas, ni un protocolo de tamizaje y tratamiento enfocado a la detección temprana de este patógeno en la población de mujeres embarazadas.

Este estudio podrá servir de base para otras investigaciones en el tema y para concientizar a las autoridades de Salud acerca de la importancia de la creación o implementación de programas de atención encaminados a la detección temprana de pacientes con GBS y vaginosis, lo que disminuiría

la mortalidad en neonatos por complicaciones en los primeros meses de la vida como consecuencia de una infección neonatal por *S. agalactiae* y reducción de los costos hospitalarios relacionados a la atención hospitalaria de estos pacientes.

III. OBJETIVOS

i. Objetivo General

- Determinar la frecuencia de Vaginosis bacteriana y de colonización por *Streptococcus agalactiae* en una población de mujeres embarazadas que se encuentran por arriba de las 28 semanas en control prenatal en el Hospital Nacional de Maternidad.

i.i Objetivos específicos

- Establecer procedimientos para el diagnóstico de Vaginosis bacteriana mediante la utilización de un sistema simplificado por medio de puntaje según coloración de Gram.
- Estandarizar los procedimientos para el aislamiento de *Streptococcus agalactiae* teniendo en cuenta las normas establecidas por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades, Atlanta, Georgia.
- Determinar la frecuencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* y Vaginosis Bacteriana en una población de mujeres embarazadas.
- Determinar factores de riesgo asociados a la colonización de *Streptococcus agalactiae* en la población de mujeres embarazadas.
- Determinar el costo de las pruebas diagnósticas empleadas requeridas por las pacientes

IV. Marco teórico

4.1 Microbiota o Flora Vaginal

La flora o microbiota humana es “la comunidad de microorganismos comensales, simbióticos y patogénicos que literalmente comparten nuestro organismo”(9). Actualmente se conoce que nuestras células se encuentran superadas en una proporción de 10 a 1 por las bacterias que habitan dentro y sobre nuestro cuerpo.(10). A lo largo de la evolución del ser humano ellas han coexistido con las células de nuestro organismo, garantizando el funcionamiento de todos los sistemas del cuerpo humano(1) Es así como en los últimos años gracias a los estudios del microbioma humano y su relación con el genoma humano, se ha podido comenzar a conocer muchos más detalles acerca de su composición y su papel tanto en la salud como en muchas enfermedades.(1)

En un estudio realizado en 2010 por Ravel *et al.*, en los Estados Unidos de América que incluyó 396 mujeres, se recolectaron muestras de secreción vaginal, que incluye los cuatro grupos étnicos humanos mayoritarios (blanco, negro, asiático y latino) y cuyo propósito fue la identificación de las bacterias por medio de la secuenciación de los genes que codifican para el 16s rRNA y la relación filogenética entre estos, se encontró la presencia de lactobacilos y de otras bacterias productoras de ácido láctico de los géneros *Atopobium*, *Megasphaera* y *Leptotrichia* (11). Estas poblaciones bacterianas son una constante en todas las muestras, a pesar de diferencias significativas encontradas en los distintos grupos étnicos.

Las especies del género *Lactobacillus* identificadas como más frecuentes en la secreción vaginal de mujeres sanas, son *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. iners* y *L. crispatus*(12) siendo estas las responsables de la acidificación de las secreciones vaginales; se encontraron diferencias en cuanto al pH vaginal, siendo el más bajo el encontrado en las mujeres blancas (4.2 +/- 0.3) y asiáticas (4.4 +/-0.59) comparado con el encontrado en las mujeres de raza negra (4.7 +/- 1.7) y latinas (5 +/- 0.59).(11) Este pH ácido del medio vaginal ayuda a prevenir el crecimiento de bacterias potencialmente patógenas y mantiene un equilibrio entre las distintas especies bacterianas de la microbiota (11–14). Un cambio en la composición de la flora, alterando su equilibrio y funcionamiento puede llevar a un aumento del pH lo que abre las puertas a bacterias patógenas oportunistas. (Cuadro 1)

En cuanto a la composición de la flora restante, se encontró una gran diversidad de bacterias, las cuales difieren tanto en número como en especie. Se identificó como factor común en todas las comunidades encontradas la capacidad de producir ácido láctico. Se puede entonces asumir, que a pesar de las diferencias en la composición de las comunidades de flora bacteriana vaginal, estas trabajan en un equilibrio perfecto, al romperse esta estabilidad por la introducción de bacterias ajena a la flora vaginal normal puede llevar al desarrollo de vaginosis bacteriana.

Las condiciones en las que hay una deficiencia de *Lactobacillus* en las secreciones vaginales se han asociado con el desarrollo de condiciones como vaginosis bacteriana y un aumento en el riesgo de transmisión y contagio de Infecciones de Transmisión Sexual(ITS) (12) y en mujeres embarazada se ha relacionado con un aumento en el riesgo de complicaciones obstétricas (Ruptura Prematura de Membranas (RPM), parto prematuro, coriamnionitis, etc.) así como también de complicaciones neonatales (sepsis, neumonía, meningitis).(10,12,15–17)

La flora vaginal además, se encuentra altamente influenciada por la presencia de estrógenos. Previamente al nacimiento, la vagina es un espacio estéril; los microorganismos se obtienen posteriormente; en primera instancia por el contacto con las manos de los cuidadores y el contacto con heces fecales(18). Durante las primeras 6 semanas de vida, podemos encontrar estrógenos maternos en la vagina del recién nacido asemejando así una flora bacteriana de una mujer adulta. Una vez metabolizados los estrógenos, la flora se sustituye por organismos encontrados comúnmente en la piel y en las heces fecales (*Staphylococcus* coagulasa negativo y *Escherichia coli*); posterior a la menarquía, encontramos las características de una flora bacteriana de una mujer adulta (*Lactobacillus* sp., *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* spp). Los estreptococos del grupo B forman parte de la flora vaginal normal en 5 - 25% de las mujeres en edad reproductiva.(8,19–21)

Entre las bacterias responsables de la alteración de la función normal de la flora vaginal podemos mencionar: *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Mobiluncus* sp., y otras, predominantemente bacterias anaeróbicas(22). En estudios más recientes también se ha identificado una alta prevalencia de *Prevotella* sp., (hasta un 65% en secreciones de mujeres sanas), y se ha demostrado que esta especie afecta de manera positiva el crecimiento de *Gardnerella vaginalis* y *Peptostreptococcus anaerobius*, mediante la producción de micronutrientes y aminoácidos esenciales para su desarrollo(11) por lo cual constituye un factor de riesgo para el desarrollo de alteraciones en la flora bacteriana, la más común de ellas, la Vaginosis Bacteriana.

4.2 Vaginosis Bacteriana

La Vaginosis Bacteriana (VB) es un desorden ecológico de la microbiota vaginal que afecta a millones de mujeres alrededor del mundo y ha sido asociada con muchos efectos adversos para la salud de la mujer, incluyendo trabajo de parto pretermino y riesgo de infecciones de transmisión sexual, así como también parto prematuro y las complicaciones que esto conlleva.(10–12,15,16) Este desorden es producido por la pérdida de los lactobacilos productores de peróxido de hidrógeno y proliferación de bacterias predominantemente anaerobias (23).Usualmente este es producido por un aumento en las concentraciones de *Gardenerella vaginalis* y *Mobiluncus* spp(2), siendo típico también la proliferación de especies

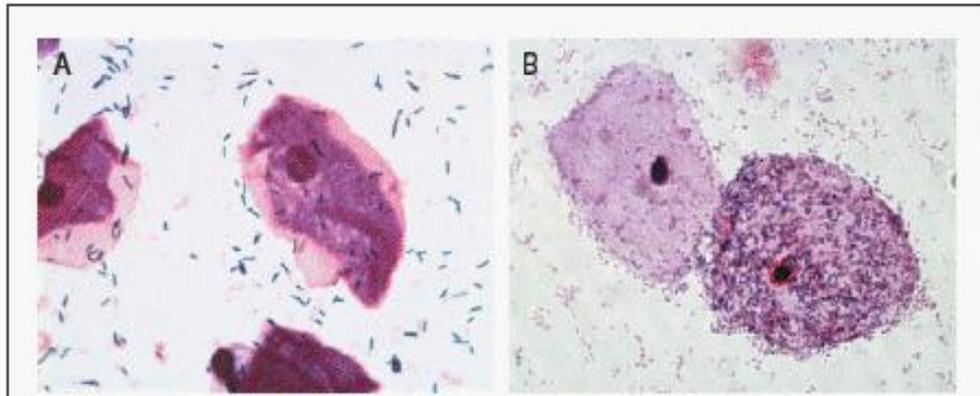
como: *Prevotella vivia*, *Peptostreptococcus* y *Mycoplasma hominis*, todo ello como consecuencia de los cambios y de la interacción microbiana.(7)

Esta condición afecta tanto a las mujeres de países industrializados como a la población de países en vías de desarrollo y no se refieren en la literatura diferencias en cuanto a la raza u origen étnico; por lo que se vuelve un problema a nivel mundial debido a las complicaciones asociadas a esta patología entre las cuales podemos mencionar aumento de riesgo de enfermedades de vías urinarias, endometritis, enfermedad pélvica inflamatoria, corioamnionitis, complicaciones neonatales como sepsis, meningitis o neumonía(12,15,17,24,25). Un 7 a 11% de los casos de amenaza de parto pretermino y complicaciones perinatales se asocian a esta patología. (2)

La ecología de la microbiota vaginal está influenciada por diversos factores, como factores hormonales tanto endógenos como exógenos(25). Dentro de los factores de riesgo identificados para vaginosis bacterianas se pueden mencionar: múltiples compañeros sexuales, haber cambiado compañero sexual en los 30 días previos, tener pareja sexual femenina, duchas vaginales, la reducción de lactobacilos en la flora normal y estresores sociales pueden aumentar el riesgo de incidencia de vaginosis bacteriana.(24)

Cuadro 1 Comparación entre secreción vaginal normal y vaginosis bacteriana (Modificado de Eckert LO. Acute Vulvovaginitis. New England Journal of Medicine. 2006; 355(12):1244-1252.)

Condición	Signos y Síntomas	Hallazgos en el examen vaginal	pH	Inspección al microscopio	Comentario
Secreción Vaginal Normal	Secreción Inodora	Flujo blanquecino Claro Viscoso	<4.5	- Células de epitelio vaginal homogéneas. - No se observan polimorfonucleares	- Se observan predominio de especies de lactobacilos o bacterias productoras de ácido láctico
Vaginosis bacteriana	- Aumento de flujo vaginal (blanco, fino) - Aumento de olor de flujo vaginal(fétido, olor a pescado)	Flujo, blanco gris, Espumoso	>4.5	- Aumento de presencia de bacilos gram (-) - Prueba de amina (+) posterior a la aplicación de KOH al 10% en la muestra vaginal - Identificación de células centinela>20%	-Disminución marcada de lactobacilos - Incremento marcado de cocobacilos a predominio Gram (-) (Ilustración 1) -Bacilos pequeños curvos.



A. Tinción de Gram de secreción vaginal normal (predominio de lactobacilos) B. Tinción de Gram de secreción vaginal de una mujer con vaginosis bacteriana.

Ilustración 1. Tinción de Gram de fluido vaginal (Tomado de Eckert LO. Acute Vulvovaginitis. *New England Journal of Medicine*. 2006; 355(12):1244-1252.

4.3 Diagnóstico de Vaginosis Bacteriana

En 1955, Gardner y Dukes proporcionaron la descripción de un síndrome que posteriormente se conocería como Vaginosis Bacteriana. Describieron un flujo vaginal grisáceo, con olor a pescado y tendencia a adherirse a las paredes vaginales, en lugar de acumularse en el fondo de saco; descubrieron además un pH mayor (4.6 a 6.0) al normal (4.6 a 4.7) y descubrieron la presencia de células centinelas (células de epitelio vaginal totalmente recubiertas en cocobacilos a predominio de Gram (-) que parecen oscuras u opacas). Más tarde, Pfeifer et al., identificaron un “olor a pescado” al agregarle hidróxido de potasio al 10 % a las secreciones vaginales de una mujer con Vaginosis Bacteriana (VB).(25)

Se crearon diferentes métodos para el diagnóstico de vaginosis bacteriana, dentro de los más utilizados a nivel mundial podemos diferenciar entre los criterios clínicos (criterios de Amsel), criterios microbiológicos (criterios de Nugent), ambos métodos con son sensibilidades similares, sin embargo el criterio microbiológico presentar una mejor especificidad (Cuadro 2)

Cuadro comparativo de los diferentes tipos de métodos para el diagnóstico de vaginosis bacteriana:

Cuadro 2. Especificidad y Sensibilidad de los métodos de diagnóstico para vaginosis bacteriana. Modificado de Eckert LO. Acute Vulvovaginitis. New England Journal of Medicine. 2006; 355(12):1244-1252.

TEST	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	COMENTARIO
<i>pH > 4.5</i>	97%	64%	
<i>Criterios de Amsel</i>	92%	77%	Diagnóstico con 3 de 4 criterios clínicos: pH>4.5, flujo vaginal, >20% células clave, prueba de aminas (+)
<i>Criterios de Nugent</i>	65.6%	97.3%	Puntaje según tinción de Gram (0-10) basado en lactobacilos y otros hallazgos; 0-3: flora normal; 4-6: flora intermedia; 7-10: vaginosis bacteriana

Criterios para el diagnóstico de vaginosis bacteriana (aceptados mundialmente como estándar de oro):

a) Criterios de Amsel.(26) Consta de cuatro características fácilmente identificables, con las cuales al estar presentes tres de ellas se puede hacer diagnóstico de VB: presencia de secreción vaginal grisácea viscosa que se adhiere a las paredes vaginales, prueba de aminas positiva (agregar KOH al 10% a la muestra, es positiva si desprende un olor a “pescado”), presencia de células centinela al examinar con microscopia y aumento del pH vaginal (>4.5 – 4.7).

b) Criterio microbiológico (Nugent). Se realiza tinción de Gram a la muestra vaginal y es analizada según el criterio de Nugent y col.(22,27,28) En este método se realiza conteo de los morfotipos correspondientes a bacilos Gram positivos (*Lactobacillus spp.*), bacilos Gram negativos pequeños (*G. vaginalis, Porphyromonas spp/Prevotella spp*) y bacilos pequeños curvos Gram variables (*Mobiluncus spp*). Este criterio permite catalogar las muestras con puntajes que oscilan entre 0 y 10 (Ver Cuadro 3). De esta manera, una muestra es diagnosticada con VB, cuando el puntaje total obtenido es igual o superior a 7; intermedio cuando el puntaje total oscila entre 4 y 6 y una muestra normal al obtener un puntaje total de 0 a 3.

Cuadro 3. Sistema de puntaje según criterios de Nugent. (Modificado de R Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. J Clin Microbiol. 1991 Feb;29(2):297-301

PUNTAJE	LACTOBACILOS	Gardnerella & Bacteroides spp.	Bastones curvos
0	4+	0	0
1	3+	1+	1+ o 2+
2	2+	2+	3+ o 4+
3	1+	3+	
4	0	4+	

Para el diagnóstico de vaginosis bacteriana en el siguiente trabajo se utilizó una modificación de los criterios de Nugent desarrollada por la Dra. Ellen Jo Baron (MS. Ph.D., Post-Doc in Clinical Microbiology and Public Health, Universidad de Standford, USA):

Cuadro 4. Modificación de puntaje de Nugent desarrollado por Dra. Ellen Jo Baron

Morfortipo	Numero visto					SCORE
	NINGUNO	1	1-5	5-30	<30	
<i>Gardnerella/Prevotella</i> Cocobacilos Gram variable	0	1	2	3	4	
<i>Mobiluncus</i>	0	1	2	3	4	
<i>Lactobacillus</i>	4	3	2	1	0	
					SCORE TOTAL	

4.4 *Streptococcus agalactiae: un patógeno oportunista de la flora vaginal*

Los estreptococos son un grupo heterogéneo de bacterias y no hay un sistema apropiado para clasificarlos. Comprende veinte especies, entre ellas: *Streptococcus pyogenes* (grupo A), *Streptococcus agalactiae* (grupo B) y *Enterococcus* (grupo D); se distinguen por combinaciones de características como la morfología de las colonias, patrones de hemólisis sobre agar sangre (hemólisis α , hemólisis β , hemólisis α o no hemólisis), composición antigénica de las sustancias de la pared celular específicas del grupo beta (GBS) y sensibilidad a bacitracina utilizando disco de 0.04 μ g. (29,30).

Los estreptococos beta hemolíticos (*Streptococcus agalactiae*), son bacterias gram positivas que causan enfermedades invasivas principalmente en mujeres embarazadas, postparto y neonatos; siendo estos últimos los más afectados debido a las complicaciones neonatales (sepsis, neumonía o meningitis) que la colonización materna por GBS y posterior infección neonatal puede causar(31). En la actualidad es considerada la principal causa de morbi-mortalidad neonatal en los EE.UU.(32)

En base al esfuerzo de la prevención en países industrializados como Estados Unidos de América se ha visto una reducción muy significativa en los últimos 15 años, de 1.7 casos por 1000 nacidos vivos (1990's) hasta llegar a 0.34-0.37 casos por 1000 nacidos vivos en los últimos años.(32)

En base a estadísticas del CDC, basadas en un estudio hecho en 10 ciudades de EE.UU, se estima que las infecciones por GBS han causado un aproximado de 1200 casos de infección invasiva en recién nacidos durante el período 2008 - 2010.(33,34)

La transmisión temprana se adquiere de manera vertical al pasar por el canal del parto, tras la exposición del producto al GBS de la vagina de una mujer infectada. Las infecciones neonatales ocurren principalmente cuando la bacteria GBS asciende desde la vagina hasta llegar al líquido amniótico posterior al inicio del trabajo de parto o posterior a la ruptura de membranas, aunque también puede haber infección a través de membranas íntegras. El GBS puede ser inhalado hacia los pulmones del feto, lo que posteriormente puede llevar a una bacteremia.

En aquellos recién nacidos afectados por esta bacteria observamos casos de distress respiratorio, apnea y otros signos/síntomas de sepsis en las primeras 24-48h de vida. Los síndromes clínicos que más comúnmente se observan en recién nacidos son sepsis y neumonía; en menor porcentaje se puede observar meningitis.(8)

4.4.1 Enfermedad Neonatal Temprana

En el neonato la enfermedad se presenta usualmente como sepsis, neumonía o meningitis. Aproximadamente el 25% de los casos se produce en prematuros. En 80% de los recién nacidos se manifiesta antes de los siete días de vida (enfermedad neonatal precoz), adquiriéndose el microorganismo durante el trabajo de parto o nacimiento (transmisión vertical). La forma tardía de la enfermedad se presenta después de los siete días de vida, y puede ser resultado de la adquisición del germen por transmisión vertical, infección adquirida desde la comunidad o infección nosocomial, por lo cual no nos referiremos a ella en este estudio ya que no se puede asociar al embarazo.(32)

4.4.2 Patogénesis

En una mujer embarazada colonizada por GBS, este puede llegar a infectar el feto por vía ascendente al producirse la ruptura de membranas o través de membranas íntegras(32) o durante el paso a través del canal del parto. La gran mayoría de los neonatos expuestos y colonizados por GBS permanecen asintomáticos, sin embargo, cerca del 1% desarrollan síntomas de infección durante las primeras horas posteriores al nacimiento.(8)

Herbert MA *et al.*, en su estudio titulado “Factores Neonatales de Virulencia en sepsis neonatal: *Streptococcus* del Grupo B” (35) han explicado el proceso de infección del GBS de la siguiente manera: adherencia, invasión y daño al huésped y sobrevivencia *in vivo*.

1. **Adherencia**

Aunque aún no se conocen con exactitud cuales proteínas juegan un papel en la adherencia a las células del huésped, se sabe que la adherencia a la superficie epitelial por medio de proteínas de superficie es un paso definitivo para la infección por GBS.(35)

2. *Invasión y daño al huésped*

Como se menciona anteriormente, en el caso de la infección neonatal, el huésped (neonato) se ve expuesto a la infección por GBS durante diferentes etapas del embarazo, ya sea por infección a través de las membranas y líquido amniótico o por transmisión vertical durante el paso a través del canal del parto.

Una vez se ha dado la invasión y la colonización del huésped por GBS, este utiliza diferentes toxinas, enzimas, etc., que llevan al desarrollo del daño al huésped. Dentro del arsenal utilizado por el GBS tenemos:

- **Hemolisinas:** La más extensamente estudiada es la hemolisina β , que es una toxina formadora de poros en la pared celular, se han visto involucradas en la destrucción de células pulmonares, generando hipertensión pulmonar, shock séptico e invasión celular. El GBS posee otras tres hemolisinas (hemolisina A, hemolisina III y el factor organismo no ha sido aún determinado).
- **Factor CAMP:** es una oligomerasa formadora de poros en las células del huésped; sin embargo, se han encontrado cepas de GBS que no producen el factor CAMP por lo que no se considera un requerimiento absoluto para la invasión del organismo huésped.
- **Enzimas digestivas:** El GBS produce una gran cantidad de enzimas como peptidasas, proteasas, colagenasa y hialuronidasa, que se cree se utilizan para la destrucción de las células de los diferentes tejidos del huésped, facilitando así la liberación de nutrientes por parte de éste y favoreciendo la propagación del GBS a nivel sistémico.

3. *Sobrevivencia in vivo*

Para lograr sobrevivir una vez dentro del huésped, el GBS debe ser capaz de burlar el sistema inmune.(35)

Existen nueve serotipos de GBS siendo los serotipos Ia, II, III y V los más comúnmente encontrados en casos de sepsis neonatal. El más común de todos ellos, el serotipo III es responsable de cerca de un 50% de los casos (8,18,35)

Se han descubierto ciertos mecanismos, que se comparten entre los diferentes serotipos para lograr esquivar o engañar el sistema inmune del huésped, dentro de los cuales podemos contar: la variación antigénica, la utilización de mecanismos mediante los cuales la bacteria se vuelve prácticamente invisible para el sistema inmune y producción de enzimas capaces de inhibir, desactivar y desnaturalizar las proteínas y componentes del sistema de inmunidad del huésped, logrando así la sobrevivencia dentro

de este, causando cualquiera de los cuadros característicos de este patógeno en el organismo: sepsis, neumonía o meningitis.(4,8,21,35,36)

4.4.3 Factores de riesgo

El principal factor de riesgo para este tipo de infección en recién nacidos es la colonización materna intraparto por GBS. En un estudio realizado en los años 1980s se demostró que las mujeres con colonización por GBS, presentaban un riesgo 25 veces mayor de infectar a los recién nacidos que en aquellas mujeres con cultivo negativo. (37)

Además se observó que 1-2% de los recién nacidos de mujeres embarazadas con resultados positivos para GBS; que no reciben tratamiento, desarrollan infecciones tempranas por GBS(32).

Otros factores de riesgo relacionados a la infección por GBS del neonato, incluye:

- Edad gestacional < 37 semanas
- Ruptura de membranas prolongada
- Edad materna
- Raza negra
- Bajo nivel socioeconómico.
- Antecedente de partos previos con infecciones por GBS (factor de riesgo de recurrencias)(37)

En un estudio realizado por Boyer *et al.*, en 1985 en los Estados Unidos de América, se observó que en mujeres con edad gestacional menor de 37 semanas, ruptura de membranas de > 12 horas de evolución o con temperatura intraparto > 37.5°C., los recién nacidos tenían un riesgo 6.5 veces mayor de presentar infección por GBS(38)

4.5 ***Diagnóstico e Identificación de Streptococcus agalactiae (GBS)***

Debido a la importancia que tiene la pronta identificación de las pacientes embarazadas colonizadas con GBS por el riesgo que este representa para los recién nacidos, se han creado varios métodos de cultivo e identificación de este patógeno a través de los años, con diferentes resultados en cuanto a sensibilidad, tiempo requerido para obtener resultados y habilidad necesaria de la persona encargada de las muestras y su procesamiento. (32,39,40)

4.5.1 Aislamiento Inicial de Streptococcus agalactiae

En el afán de estandarizar procedimientos para facilitar la identificación del GBS, grupos como el conformado por el CDC, la Asociación Americana de Pediatría y el Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos, han elaborado Guías de Prevención de la enfermedad neonatal por Estreptococo

Beta Hemolítico y han dado lineamientos acerca de la recolección de muestras y su procesamiento en laboratorio.

Dentro de estas estrategias, se contemplan los siguientes puntos:

- Se debe colectar la muestra de mujeres entre las 35 – 37 semanas de gestación, o por lo menos en las 5 semanas previas a la fecha estimada del parto.
- La muestra se colecta mediante hisopado del tercio inferior de la vagina y del esfínter anal, pudiendo usarse el mismo hisopo para ambos muestreos o hisopos diferentes si así se prefiere. No es necesaria la utilización de espéculo para la recolección de la muestra.
- La muestra debe ser colocada en un medio no nutritivo (medio de Stuart o medio de Amies) para su transporte en caso de ser necesario y debe ser cultivado dentro de las primeras 24 horas de su colección.
- Se recomienda la inoculación de la muestra en un medio de cultivo selectivo, como el caldo Todd – Hewitt suplementado con gentamicina y ácido nalidixico. Posteriormente el caldo resultante se sub-cultiva en agar con sangre de carnero al 5 % para aumentar la posibilidad de identificación de colonias de GBS.
- Posteriormente, las colonias sospechosas son sometidas a diferentes pruebas para comprobar la existencia de colonias de GBS; entre ellas tenemos: tinción de GRAM, prueba del Factor CAMP, aglutinación por partículas de látex.
- En aquellas pacientes que se sepa que existe historia de anafilaxia a betalactamicos, se recomienda realizar pruebas de susceptibilidad a clindamicina y/o eritromicina.

4.5.2 Identificación Presuntiva de *Streptococcus agalactiae*

Los estreptococos del grupo B son cocos grampositivos que forman cadenas cortas en las muestras clínicas y cadenas más largas en el cultivo, características que los hacen indistinguibles de *S. pyogenes* en la tinción de Gram. Crecen bien en los medios enriquecidos con nutrientes y a diferencia de las colonias de *S. pyogenes* las colonias de *S. agalactiae* tienen un aspecto mantecoso y generan una estrecha zona de hemólisis. Cerca de un 1 a 2% de las cepas no producen hemólisis.(41)

La catalasa es una enzima cuya función es la de descomponer el peróxido de hidrógeno en hidrógeno y agua. Excluyendo al género *Streptococcus* y algunas otras la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas poseen catalasa. La base de la Prueba de la Catalasa es demostrar la presencia de esta colocando dos o tres gotas de H₂O₂ a un extendido de

colonia en una superficie plana, como una laminilla portaobjetos limpia. El resultado se lee como catalasa positivo si hay efervescencia.(30)

En años recientes, se ha estudiado la utilización de medios de cultivo diferentes para la identificación de GBS (39,40,42); dentro de estos, uno de los más estudiados ha sido el medio de cultivo GRANADA, en el cual las colonias de GBS generan color anaranjado – rojizo, lo cual facilita su identificación y reduce el tiempo de diagnóstico en aproximadamente 24 horas en comparación con los resultados con el medio de cultivo de Todd – Hewitt; se ha reportado en diferentes estudios una sensibilidad para el medio de Granada y otros medios cromogenicos como el Caldo Zanahoria producido por Hardy Diagnostic, USA, de aproximadamente el 90% que junto con la reducción del tiempo de diagnóstico (39,42), lo colocan como una buena opción para la identificación de pacientes con GBS. Sin embargo, se ha reportado que con la utilización de este medio se puede pasar por alto hasta un 5% de las pacientes con GBS (39) por lo cual no se recomienda como único medio para el diagnóstico e identificación en pacientes embarazadas.

Una vez identificadas las colonias sospechosas a GBS en las placas de Agar Columbia enriquecidas con sangre de carnero al 5% es necesario realizar la identificación de dichas colonias por lo cual es necesario realizar distintas pruebas diagnosticas de las que se hablan a continuación.

4.5.3 Identificación definitiva de *Streptococcus agalactiae*

Los métodos utilizados para la identificación de GBS se basan en ciertas características propias de esta bacteria de las cuales podemos tomar ventaja para lograr su identificación. Dentro de estas características tenemos: la presencia de factor CAMP, la ausencia de hidrólisis de PYR (pyrolidonil- β -Naphthylamida) y la producción de pigmentos en medios de cultivo adecuados.

4.5.3.1 Factor CAMP:

Los *Streptococcus* del grupo B producen una proteína difusible y termoestable (factor CAMP) que aumenta la hemólisis de *Staphylococcus aureus* el cual (sembrado desde la parte superior hacia la parte inferior de la placa) produce esfingomielinasa C, la cual se puede unir a las membranas de los hematíes. Ambos son productos extracelulares que difunden en el medio de cultivo, produciendo la acentuación de la reacción β – hemolítica que ocurre cuando los dos reactivos se superponen en una placa de Agar Sangre de Carnero.

En esta prueba se observa un efecto sinérgico que se produce al interactuar el factor CAMP producido por cepas de *S.agalactiae* con la hemolisina β de *Staphylococcus aureus*. Una vez inoculados, los medios de cultivo deben ser incubados a 35-37oC por 18-24 horas.

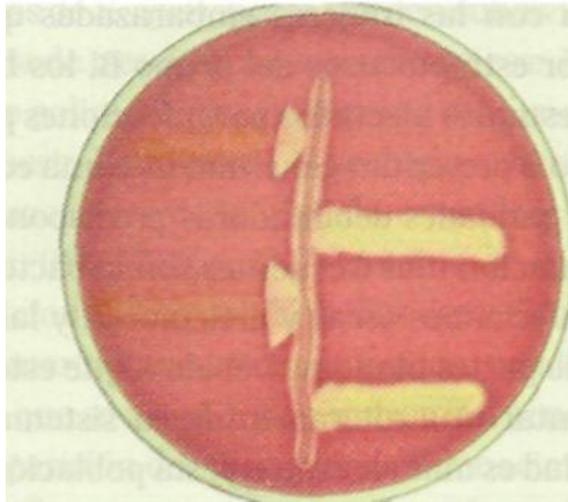


Ilustración 2. Prueba de Camp. Obsérvese las dos reacciones positivas de la izquierda (punta de flecha) con las reacciones negativas de la derecha.

4.5.3.2 Ausencia de Hidrólisis de PYR:

La prueba consiste en determinar la presencia de la enzima L-pirrolidonil arilamidasa. Los microorganismos que contienen dicha enzima, pueden hidrolizar el sustrato presente en los discos en forma rápida, con liberación del grupo pirrólico, el cual reacciona con el reactivo revelador: N-N dimetilamino cinamaldehído. *S. agalactiae* da un resultado negativo a la prueba de PYR)

Esta es una prueba presuntiva específica tanto para los estreptococos β hemolíticos del grupo A, como para los *Enterococcus sp*; y permite diferenciar los *Streptococcus* del grupo A de otras especies de *Streptococcus*.

Existen varias formulaciones comerciales basadas en esta función, las cuales agregan un sustrato que reaccionan produciendo un color característico (usualmente dentro del espectro de anaranjado-rojo) mediante el cual se interpretan los resultados positivos.

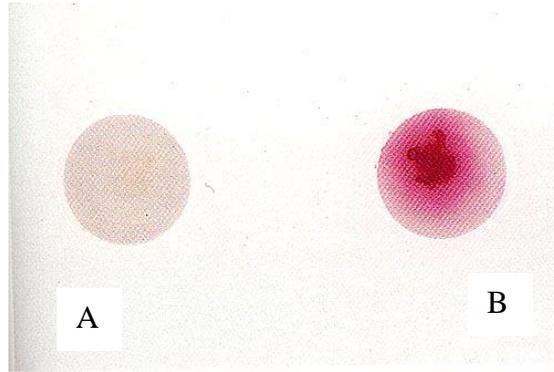


Ilustración 3. Reacción de PYR. A la izquierda (A) una reacción negativa (*Streptococcus agalactiae*); a la derecha (B) se reacción positiva a PYR, observa la coloración roja en el disco (*Staphylococcus aureus*)

4.5.3.3 Producción de pigmentos:

Consiste en medios de cultivo los cuales incorporan métodos de pigmento cromogenicos para la detección de GBS, como el medio de Granada (Biomédica, Madrid, España), Carrot Broth (Hardy Diagnostic, USA), etc.].

El caldo zanahoria (Carroth Broth) es un medio cromogenico listo para usar, el cual ha sido formulado para la identificación de las cepas hemolíticas de *Streptococcus agalactiae* y que puede generar resultados en un período de 6 a 24 horas.

Se hace uso de la característica única de los estreptococos β – hemolíticos grupo B, de producir colonias rojas o anaranjadas debidas a la formación de un pigmento específico cuando se incuba en condiciones adecuadas. La fórmula es la descrita por de la Rosa *et al*(42), ha sido desarrollada a partir de los medios descritos por Islam y de la Rosa utilizando la capacidad de inducir la formación de pigmento que en el GBS poseen los inhibidores de folato. La aparición de colonias rojas en el medio es específica (100 %) de *Streptococcus agalactiae*.(39,42,43)



Ilustración 4. Reacción Positiva de Caldo Zanahoria a *Streptococcus agalactiae*, nótese el cambio de coloración de blanco a naranja.

4.6 Prevención de la enfermedad neonatal por GBS

Tamizaje

El tamizaje universal tiene costos superiores a la Selección por Factores de Riesgo (SPFR), pero permite contar con una medición de laboratorio objetiva que facilita la evaluación de los resultados; la selección por factores de riesgo es teóricamente más sencilla de implementar, pero la valoración de los resultados es más dificultosa.(44)

Desde la implementación de las guías creadas por el CDC para la prevención perinatal de infecciones por *Streptococcus* beta hemolítico en el año 1996, se ha visto una marcada tendencia a la disminución de complicaciones, tanto tempranas como tardías (Ilustración 5) con lo que se demuestra la eficacia del tamizaje y la importancia de este.(32)

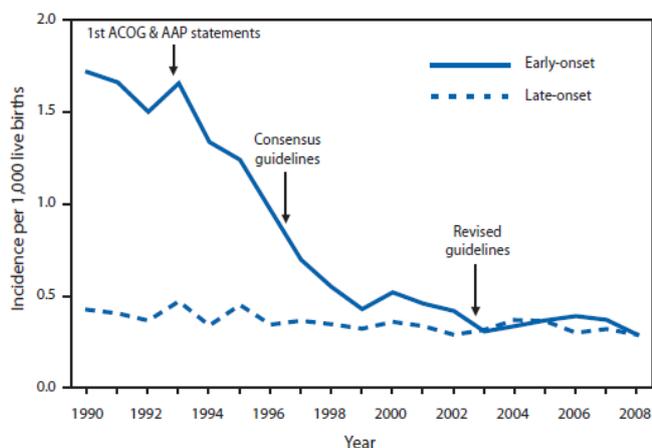


Ilustración 5. Incidencia de enfermedad neonatal Temprana y tardía por GBS de 1990 a 2008. Tomado de "Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease, Revised Guidelines form CDC, 2010"

Profilaxis intraparto con antibióticos endovenosos:

El uso de antibióticos intraparto como método profiláctico para prevenir la infección por GBS en recién nacidos, fue estudiado por primera vez en los años '80s. Estudios clínicos junto a estudios observacionales, demostraron que de esta manera, se disminuye la infección vertical.(45,46) Pruebas tempranas, han demostrado una eficacia del 100% para profilaxis intraparto con antibióticos para prevenir infección neonatal temprana, en aquellas mujeres infectadas con GBS (46–48). Otros estudios con las mismas circunstancias, han demostrado una efectividad de 86-89% (38,46,48)

La eficacia de la penicilina y la ampicilina administradas por vía endovenosa intraparto para la prevención de la infección temprana por GBS, ha sido comprobado por múltiples estudios realizados anteriormente(7,48–51). Las dosis de penicilina y ampicilina usadas como profilaxis intraparto contra GBS se calculan para lograr adecuados niveles en la circulación fetal en el líquido amniótico de manera rápida, y evitando niveles de toxicidad tanto para la madre como para el feto. La duración del tratamiento profiláctico es ampliamente discutida (49,50,52). En el caso de antibióticos betalactámicos se considera que una administración al menos cuatro horas previo al parto ha dado muy buenos resultados para la prevención de la transmisión vertical de GBS (32,38,49,52) y para la prevención de infección neonatal temprana. La administración de antibióticos en momentos más cercanos al parto puede proporcionar algún tipo de protección; específicamente se menciona, que en caso de ser administrado con al menos dos horas previas al parto se obtiene cierto grado de protección. (32,38)

En el caso de pacientes con antecedentes de reacciones adversas a tratamiento con betalactámicos como penicilina o cefalosporinas, el CDC en sus guías de prevención recomienda el estudio de sensibilidad con antibióticos como la clindamicina y eritromicina. (32)

Se han estudiado otras iniciativas para reducir infección materna e infección vertical, incluyendo administración intramuscular de antibióticos al momento del parto de manera profiláctica (48) ; antibióticos orales e intramusculares(53,54), y duchas vaginales o limpieza vaginal con chlorexidina.(55)

V. Materiales y Métodos

5.1 Tipo de Estudio

El presente constituye un estudio descriptivo de tipo transversal.

5.2 Universo de Trabajo

5.2.1 Población

Se tomó como población a estudiar a las mujeres embarazadas, que asistieron a su control prenatal en la consulta externa de Detección de Riesgo del Hospital Nacional de Maternidad, San Salvador, El Salvador desde la tercera semana de Noviembre 2011 hasta la primera semana de Enero 2012.

5.2.2 Muestra

Se consulto con el Departamento de estadística del Hospital acerca de la cantidad de pacientes mensual promedio que asisten a la consulta de Detección de Riesgo reportando que el número de pacientes que llegan mensualmente a la consulta de Detección de Riesgo es aproximadamente de 150 pacientes por mes. Se utilizaron estos datos y se introdujeron en el software OpenEpi versión 2.0 del CDC de Atlanta obteniendo los siguientes resultados:

Sample Size for Frequency in a Population

Population size(for finite population correction factor or fpc)(<i>N</i>):	150
Hypothesized % frequency of outcome factor in the population (<i>p</i>):	5%+/-3
Confidence limits as % of 100(absolute +/- %)(<i>d</i>):	3%
Design effect (for cluster surveys- <i>DEFF</i>):	1

Sample Size(*n*) for Various Confidence Levels

Confidence Level(%)	Sample Size
95%	87
80%	56
90%	74
97%	94
99%	106
99.9%	119
99.99%	127

Equation

Sample size $n = [DEFF * Np(1-p)] / [(d^2 / Z^2_{1-\alpha/2} * (N-1) + p*(1-p)]$

N = 86 Si se tomara el total de la población atendida en la Consulta de detección de riesgo

De acuerdo a Moreno Altamirano, en su libro “Epidemiología Clínica” se propone que para validación de pruebas diagnosticas se propone una muestra igual o mayor a 144 por lo decidió tomar una N=150 teniendo en cuenta las limitaciones de financiamiento del estudio, así como que la muestra seleccionada era representativa de la población de la consulta de detección de alto riesgo y que este valor se encontraba por encima del 99.99% del nivel de confianza.

5.2.3 Criterios de inclusión y exclusión

Para la elección de las pacientes que participaron en este estudio se tomaron en cuenta las siguientes condiciones:

Criterios de Inclusión

- Toda aquella mujer embarazada, sin importar su edad, que éste llevando su control prenatal en la consulta externa de detección de riesgo del Hospital Nacional de Maternidad y que se encuentre entre las 20 y 37 semanas de embarazo.
- Toda paciente que esté de acuerdo voluntariamente en participar en el estudio.

Criterios de exclusión

- No se procesaran aquellas muestras que no hayan sido conservadas adecuadamente.
- Aquellas muestras en las que la información requerida no esté completa.
- Aquella paciente que no quisiera participar en el estudio.

5.3 Definición Operacional de Variables

Cuadro 5. Definición operacional de Variables

Variable	Definición	Indicador
Mujer Embarazada	Mujer en edad fértil que presente algún síntoma de embarazo o tenga diagnóstico comprobado mediante	<ul style="list-style-type: none">• Gonadotropina coriónica humana en sangre u orina (valor normal < 5 µg/dL)

	prueba de laboratorio y/o imagenológica que se encuentre en control prenatal del Hospital Nacional de Maternidad por embarazo de alto riesgo y que se encuentre por arriba de las 20 semanas de gestación.	<ul style="list-style-type: none"> • Embarazo comprobado mediante ultrasonografía • Amenorrea arriba de 20 semanas.
Vaginosis Bacteriana según criterios de Nugent	Desorden ecológico de la microbiota vaginal normal, que resulta de una pérdida de lactobacilos siendo sustituidos por una flora predominantemente anaeróbica.	Criterios de Nugent (mediante tinción de Gram): <ul style="list-style-type: none"> • 0-3: normal • 4-6: intermedio • 7-10: Vaginosis Bacteriana
Leucorrea	Descarga vaginal anormal aumentada y en ocasiones acompañada de cambio de color a un color grisáceo, mal olor, prurito, disuria o dispareunia	<ul style="list-style-type: none"> • Dato verbal proporcionado por la paciente, al indagar sobre la presencia de leucorrea que se haya presentado en cualquier fase de su embarazo actual.
Tratamiento de Leucorrea	Administración de medicamentos para el manejo de leucorrea en pacientes embarazadas	<ul style="list-style-type: none"> • Dato verbal o documentado en la historia clínica de la paciente, al indagar sobre antecedentes de tratamiento anterior relacionado con leucorrea durante algún momento de su embarazo.
Infección de Vías Urinarias (IVU)	Infección de cualquier componente del tracto urinario.	<ul style="list-style-type: none"> • Dato verbal proporcionado o documentado en la historia clínica de la paciente, al indagar sobre la presencia de IVU en algún momento de su embarazo.
Tratamiento de IVU	Administración de medicamento antibiótico para el tratamiento de infección de vías urinarias en pacientes embarazadas	<ul style="list-style-type: none"> • Dato verbal proporcionado por las pacientes al indagar sobre la administración de antibióticos para el manejo de IVU en algún momento de su embarazo.

Infecciones de transmisión sexual	Infecciones y enfermedades transmitidas por vía sexual, sus complicaciones y secuelas.(56)	<ul style="list-style-type: none"> • Dato verbal o dentro de la historia clínica de la paciente sobre infecciones de transmisión sexual presentes en el transcurso del embarazo actual.
Amenaza de Parto Prematuro	Inicio de verdadero trabajo de parto que tiene lugar después de 20 semanas de gestación y antes de las 37 semanas completas de edad gestacional(57)	<ul style="list-style-type: none"> • Dato verbal o documentado dentro del expediente clínico de la paciente sobre episodios de amenaza de parto prematuro en el embarazo actual.
Aborto	Perdida espontanea de un embarazo clínico antes de completadas las 20 semanas de edad gestacional, o si la edad gestacional es desconocida, la pérdida de un embrión/feto menor de 500 gr.	<ul style="list-style-type: none"> • Dato verbal o documentado dentro del expediente clínico de la paciente sobre el número de abortos en embarazos anteriores.
Antibioticoterapia en embarazos anteriores.	Antecedentes de antibioticoterapia recibida en embarazos anteriores por cualquier patología que así lo requiriera.	<ul style="list-style-type: none"> • Dato verbal o documentado dentro de la historia clínica de la paciente sobre el uso de antibioterapia en embarazos anteriores.
Complicaciones en embarazos anteriores	Antecedente de complicaciones en embarazos anteriores las cuales pueden ser de carácter: materno(aquellas dadas por patologías propias de la madre) y/o complicaciones fetales o neonatales (aquellas relacionadas directamente con el feto o que se presentaron durante el periodo neonatal)	<ul style="list-style-type: none"> • Dato verbal o documentado en la historia y antecedentes clínicos de la paciente sobre historia de complicaciones en embarazos anteriores.

Colonización por <i>Streptococcus agalactiae</i> (identificación por producción de pigmentos)	Bacteria Gram positiva, perteneciente al grupo B de Lancefield, capaz de generar un halo de beta hemolisis al ser cultivado en agar sangre.	<ul style="list-style-type: none"> Producción de Pigmentos: se realizara mediante el cultivo en medio cromogenico (Carrot Broth) el cual, al haber presencia de GBS se tornara de color rojo-anaranjado.
Colonización por <i>Streptococcus agalactiae</i> (identificación de acuerdo a normas establecidas por CDC)	Bacteria Gram positiva, perteneciente al grupo B de Lancefield, capaz de generar un halo de beta hemolisis al ser cultivado en agar sangre.	<p>Identificación de colonias de GBS siguiendo las guías dadas por el CDC:</p> <ul style="list-style-type: none"> Aquellas colonias que presenten en su borde una zona leve de hemolisis beta serán sometidas a diferentes pruebas para comprobar la existencia de colonias de GBS; entre ellas tenemos: <ul style="list-style-type: none"> Prueba de Camp: hemolisis en punta de flecha Prueba de PYR negativa
Tiempo de Diagnostico	Cantidad de tiempo, expresada en días, horas, minutos necesarios para tener un resultado a partir de las muestras obtenidas de cada paciente.	<p>Cantidad de tiempo necesaria para realizar diagnostico:</p> <ul style="list-style-type: none"> Días Horas Minutos
Costo de pruebas Diagnosticas por paciente	Costo monetario individual por paciente para el diagnostico de colonización por GBS y vaginosis bacteriana.	Cantidad de dinero utilizado por paciente para realizar los procedimientos diagnósticos, expresado en dólares americanos: (\$)

5.4 *Recolección de datos y manejo de las muestras.*

5.4.1 *Colección de la información*

Los sujetos a quienes se les realizó el estudio, aceptaron voluntariamente su participación en el mismo, posterior a firmar un consentimiento informado, se le realizo una encuesta para obtener datos socios demográficos de la

paciente, historia ginecoobstétrica de embarazos anteriores y embarazo actual. (Anexo 2).

A cada encuesta se le asignó un número, de carácter ordinal, el cual también se asignó a todas las muestras tomadas a la paciente para fácil identificación y garantizar la protección de identidad de las mismas, además de evitar confusiones durante el manejo y procesamiento de muestras en el laboratorio.

5.4.2 Técnica de toma de muestra

COLECCIÓN DE MUESTRAS PARA AISLAMIENTO DE *S. AGALACTIAE*

Para la recolección de las muestras, se siguieron las recomendación hechas por el Centro para el Control de Enfermedades (CDC) sobre la recolección de muestras vagino – rectales para el cultivo e identificación de *Streptococcus* Beta Hemolítico del Grupo B, las cuales se detallan a continuación de acuerdo a la Guía para la Prevención de enfermedad neonatal por *Streptococcus* del grupo B (*Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease, Revised Guidelines from CDC, 2010.*)(32):

- Se realizó un hisopado del tercio inferior de la vagina (introito vaginal), seguido por un hisopado rectal introduciendo el hisopo a través del esfínter anal; se pueden utilizar hisopos diferentes o el mismo hisopo para recolectar la muestra. No se aceptaron hisopados cervicales, perianales, perirectales o perineales, y se recomendó no utilizar espéculo para su recolección. (ilustración 6)
- Ambos hisopos se colocaron en caldo Todd-Hewitt (TH) y se mantuvieron refrigerados a 4 °C hasta el momento de su procesamiento.

COLECCIÓN DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE VAGINOSIS

- Las muestras para vaginosis, se recolectaron al mismo tiempo que las muestras para aislamiento de GBS. El hisopo conteniendo muestra de secreción vaginal del tercio inferior de la vagina (ilustración 6) se extendió en una lámina portaobjetos nueva, que se dejó secar a temperatura ambiente y posteriormente se fijó con metanol en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Dr. José Matías Delgado.

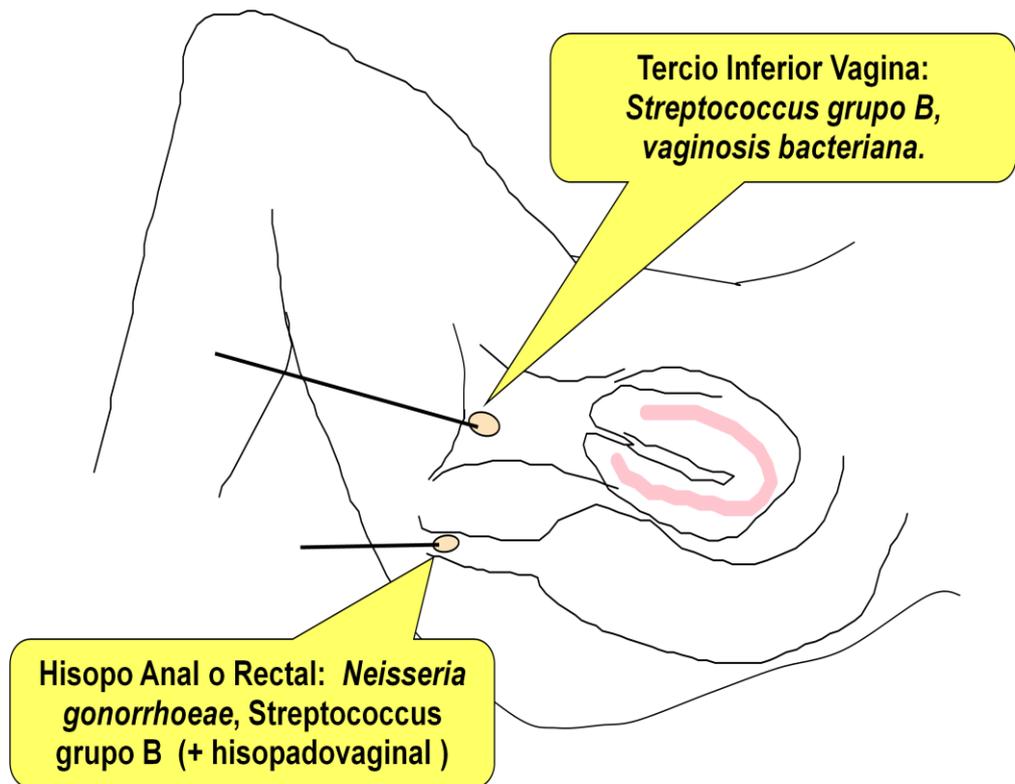


Ilustración 6. Sitios Adecuados para la toma de Muestras

5.4.3 Medios de Transporte y manejo de muestras

I. Evaluación del medio de transporte

Se evaluaron dos medios de transporte para la realización del estudio: Amies, y Stuart (preparado a partir de una formulación comercial en el laboratorio de microbiología del Hospital Nacional de Maternidad). Ambos medios son recomendados por las normas dadas por el CDC en la Guía para la Prevención de enfermedad neonatal por *Streptococcus* del grupo B (*Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease, Revised Guidelines from CDC, 2010.*)

Adicionalmente se utilizó el caldo Todd-Hewitt (TH) con antibióticos (medio de enriquecimiento para GBS), que si bien no es un medio de transporte, permite el crecimiento sin inhibición de *S. agalactiae*.

En estos medios se inocularon 2 hisopos conteniendo cantidades similares de inóculo (2 colonias) de una cepa de referencia de *S. agalactiae* tipificada por medio de API y proporcionada por el laboratorio del Hospital Iero de Mayo del Seguro Social de El Salvador y muestras provenientes de los aislamientos clínicos.

Previo a su procesamiento los medios de transporte se mantuvieron a temperatura ambiente y el medio TH se mantuvo a 4°C, por un periodo de de 5 h, tratando de reproducir condiciones similares a las del aislamiento de GBS a partir de muestras clínicas.

Posteriormente los hisopos de los medios de transporte se inocularon en Caldo TH. Estos tubos y el tubo control conservado a 4°C todos fueron incubados en atmosfera de CO₂ a 35°C durante 15h aproximadamente. Al cabo de este tiempo se tomó una asada de todos los tubos y se estrió en placas medio Agar Columbia con 5% de sangre de carnero, las cuales fueron incubadas 24h en condiciones similares a las ya descritas para el posterior conteo de colonias.

Cuadro 6. Diseño Experimental para evaluación de Medios de Transporte

Cepas <i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Medios de cultivos</i>		
	Amies	Stuart	Todd Hewitt
Cepa de referencia de Hospital Iero de Mayo ISSS*	X	X	X
ELS-55	X	X	X
ELS-85		X	X
ELS-DV		X	X

Nota 1. El prefijo ELS se utiliza para identificar cepas de *S. agalactiae* obtenidas de aislamientos clínicos de pacientes salvadoreñas. *Cepa de referencia proporcionada por el Hospital Iero de Mayo del Instituto Nacional del Seguro Social tipificada por medio de API

II. Concentración de antibióticos

De acuerdo a las recomendaciones dadas por el CDC las muestras obtenidas deben ser incubadas en 5 ml de caldo Todd - Hewitt enriquecido con ácido nalidixico (15µg/mL) y gentamicina (8µg/mL)(32) esto para lograr una mejor posibilidad de aislamiento de GBS. Recomiendan que la preparación de los caldos se haga con sales de antibiótico, sin embargo, por el alto costo que esto representaba, decidimos enriquecerlos con discos de difusión de 30 µg cada uno como los utilizados para realizar antibiogramas.

Esto represento una alternativa muy económica debido a la disponibilidad local; los discos para pruebas de sensibilidad de ácido nalidixico de 30 µg y discos de gentamicina de 30 µg para la preparación del caldo, se agregaban a los tubos de TH en la mañana del día en que serian colectadas las muestras. Estos discos se encuentran disponibles localmente a muy bajo costo. Debido a la diferencia de concentración en los discos, fue necesario evaluar dos concentraciones cercanas a las concentraciones recomendadas por el CDC para complementar los discos.

El caldo TH con dos concentraciones de antibióticos (medio de enriquecimiento para GBS), si bien no es el medio de transporte, permite el aislamiento sin inhibición de *S. agalactiae*.

Se prepararon dos grupos de tubos conteniendo 5ml de TH; a un grupo se le agregó dos discos de gentamicina y tres discos de ácido nalidixico alcanzando así concentraciones de 12 µg/mL de gentamicina y 18 µg/mL de ácido nalidixico; el segundo grupo contenía un disco de gentamicina y dos discos de ácido nalidixico, alcanzando en este caso 6 y 12 microgramos/mililitro respectivamente.

En estos medios se inocularon hisopos conteniendo como inóculo dos colonias de *S. agalactiae* tomadas a partir de cultivos de 12 horas de una cepa de referencia de *S. agalactiae* proporcionada por el laboratorio del Hospital Iero de Mayo del Instituto del Seguro Social y tipificada por medio de API y cepas de aislamientos clínicos.

Previo a su procesamiento los medios se mantuvieron a 4°C, por un periodo de 5 h aproximadamente, tratando de reproducir condiciones similares a las del aislamiento de GBS a partir de muestras clínicas en el campo.

Posteriormente estos tubos fueron incubados en atmósfera de CO₂ a 35°C durante 15h. Al cabo de este tiempo se tomó una azada de todos los tubos y se estriaron placas con Agar Columbia con 5% de sangre de carnero, las cuales fueron incubadas 24h en condiciones similares a las ya descritas, para el posterior conteo de colonias.

Cuadro 7. Diseño Experimental para evaluación de diferentes Concentraciones de Antibióticos

<i>Cepas</i>	<i>Medios de cultivos</i>	
	Medio TH con Gentamicina (12µg) y Ac Nalidixico(18µg)	Medio TH con Gentamicina (6µg) y Ac Nalidixico(12µg)
<i>Streptococcus agalactiae</i>		
Cepa de Referencia de Hospital Iero de Mayo	X	X
ELS-DV	X	X
ELS-55	X	X
ELS-85	X	X
ELS-74	X	X
ELS-73	X	X

Nota 2. El prefijo ELS se utiliza para identificar cepas de *S. agalactiae* obtenidas de aislamientos clínicos de pacientes salvadoreñas.

III. Manejo de las Muestras Recolectadas

Una vez recolectas las muestras, éstas se mantuvieron en frío hasta su traslado a las instalaciones del laboratorio de Microbiología de la Universidad Dr. José Matías Delgado, el cual se llevaba a cabo diariamente.

Los tubos de caldo Todd Hewitt complementados con Acido Nalidixico y Gentamicina conteniendo ambos hisopos del muestreo se incubaron por 15-18 horas a 35°C en atmosfera de CO₂ al 5%.

Después de esta incubación ambos hisopos se inocularon en medio caldo Zanahoria y medio agar Columbia 5% de sangre de carnero y se incubaron nuevamente por 24h a 35°C; solamente los cultivos en placa de agar Columbia se cultivaron en condiciones de atmosfera de CO₂ al 5%. Una vez transcurrido el tiempo de incubación se examinaron las placas en busca de colonias morfológicamente pequeñas de 1 a 2 mm de diámetro, de aspecto mantecoso y con un halo pequeño de beta hemolisis a su alrededor(41). Los tubos de medio caldo Zanahoria fueron inspeccionados visualmente en busca de un cambio de coloración del color blanquecino del medio al más sutil cambio en coloración, que puede ir desde un rosa melocotón hasta un naranja intenso lo cual se interpreta como un resultado positivo.

Todas las colonias sospechosas, así como los caldos Zanahoria positivo fueron sub cultivadas para la obtención de cultivos puros y su posterior caracterización por pruebas bioquímicas.

5.4.4 Identificación microbiológica de colonias sospechosas a Streptococcus agalactiae

A todas las colonias presuntivas de GBS, se les realizaron las pruebas de Tinción de Gram, Catalasa, PYR y Prueba CAMP para poder confirmar la presencia de GBS(3,5,30,32,41).

Las pruebas bioquímicas, catalasa y PYR se realizaron de la siguiente manera:

- **I. Catalasa:** Para la realización de la prueba se realizaba un extendido de la colonia sospechosa en una lamina portaobjetos y posteriormente se le agregó 1 a 2 gotas de peróxido de hidrogeno al 3%. Se consideró una prueba positiva al tener efervescencia en la colonia examinada.

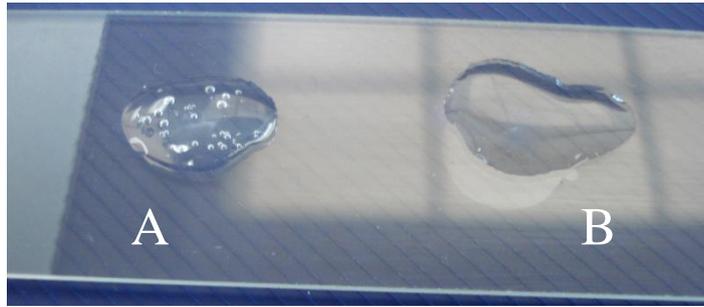


Ilustración 7. A) Reacción positiva de colonia de Enterococo a la Prueba de Catalasa (nótese las burbujas que denotan la liberación de oxígeno al descomponer el peróxido de hidrógeno; B) Reacción de extendido de colonia de GBS (nótese la ausencia de burbujas)

- II. Prueba de PYR:** Para la realización de la prueba de PYR se utilizaron dos pruebas comerciales: PYR Test Kit and PYR Reagent, distribuido por Hardy Diagnostic, California, USA y PYR DISC K1538B de laboratorios KEY SCIENTIFIC. Esta prueba se realizó siguiendo las instrucciones de los fabricantes: Se realizaba un extendido de la colonia sospechosa sobre discos humedecidos con agua estéril, 5 minutos después se añadió el reactivo revelador generando un tono rojo-naranja en caso de ser positiva o incolora en caso de ser negativo. *Streptococcus agalactiae* carece de dicha enzima, por lo cual al realizar la prueba de PYR esta es negativa

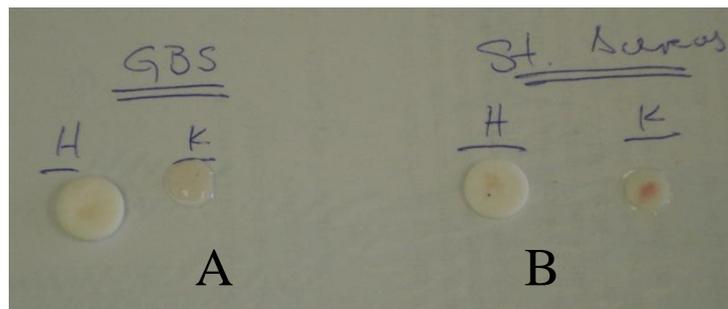


Ilustración 8 Comparación en la reacción de PYR para dos bacterias diferentes: A) Reacción de *Streptococcus agalactiae*, nótese la ausencia de pigmento debido a la ausencia de la enzima L-pirrolidonil arilamidasa; B) Reacción de *Staphylococcus aureus*, generando un color naranja intenso en los discos de reactivo.

Se realizaron también pruebas microbiológicas a aquellas muestras sospechosas para GBS.

Las pruebas microbiológicas utilizadas fueron la Tinción de Gram y la prueba de CAMP, las cuales se describen a continuación.

- Tinción de Gram.** Se realizó un extendido de todas aquellas colonias sospechosas de GBS y se colorearon utilizando la tinción de Gram. En el caso de *S. agalactiae* se observaron cocos gram positivo que forma cadenas largas en muestras de cultivo.

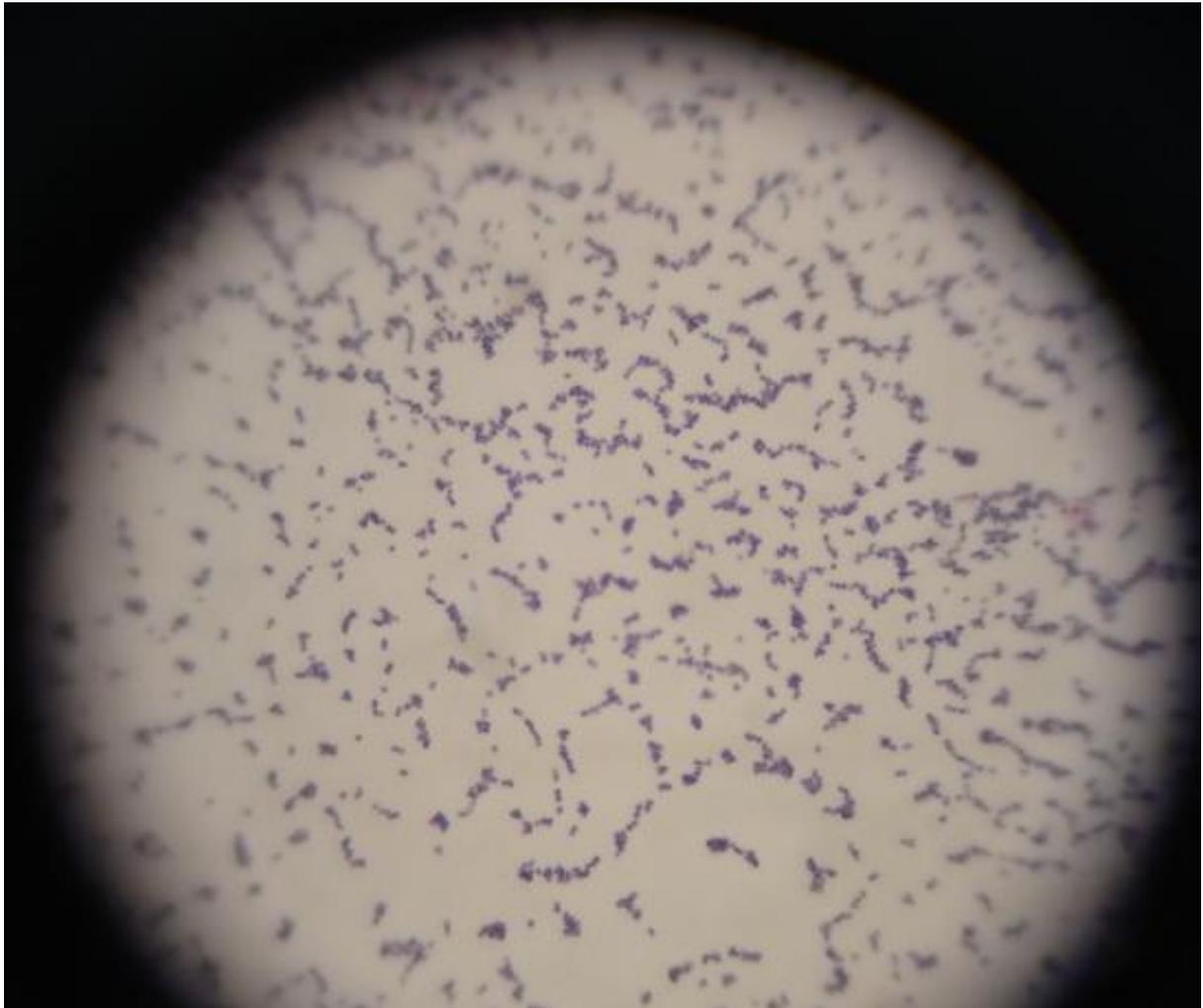


Ilustración 9. Microscopia de cepa de *Streptococcus agalactiae* (100x) obtenida de las muestras tomadas durante este estudio. Observe abundantes cocos gram positivos distribuidos en cadenas en todo el campo de visión.

- **Prueba de CAMP.** En esta prueba se observa un efecto sinérgico que se produce al interactuar el factor CAMP producido por cepas de *S.agalactiae* con la hemolisina β de *Staphylococcus aureus*, potenciando de esta manera la hemólisis lo cual da como resultado característica una “punta de flecha” en el lugar donde se dió esta reacción.

Para la realización de la prueba de CAMP se utilizaron cepas de GBS obtenidas de aislamientos clínicos y una cepa de GBS proporcionada por el Hospital 1ero de Mayo del Instituto del Seguro Social como cepa control. La cepa de *S. aureus* utilizada fue la ATCC 25923.

De los aislamiento clínico, la cepa de GBS ATCC y la de *S. aureus*, se realizaron sub-cultivos de 12 horas de colonias aisladas previamente en medio Agar Columbia enriquecido con Sangre de carnero al 5%. Con ayuda de un asa con punta de aguja se inoculó la cepa de *S. aureus* ATCC 25923 en línea recta de forma vertical y en el centro de las placas Agar Columbia y Agar Tripticosa Soya ambos suplementados con Sangre de carnero al 5%

Posteriormente se procedió a realizar el inóculo de la cepa de GBS proporcionada por el Hospital Iero de Mayo y de los aislamientos clínicos. Utilizando un asa en punta de aguja se recogió 1-2 colonias por cepa para luego realizar el inóculo en línea recta de forma horizontal en la placa de Agar Columbia y perpendicular al inóculo de *S. aureus*, procurando evitar que exista contacto entre ambos inóculos. Dichas placas fueron incubadas por 15-18 horas a temperatura de 35°C y en un medio de CO₂. Una vez transcurrido el período de incubación fueron revisadas visualmente para comprobar los resultados.

Debido a la sinergia existente entre las cepas de *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus* se observa el desarrollo de una zona hemolítica muy clara, triangular con forma de punta de flecha, indicando la amplificación de la hemólisis apuntando desde la línea del estreptococo hacia la línea del estafilococo tomando la prueba como resultado positivo.

5.4.5 Diagnostico de Vaginosis

El diagnóstico de vaginosis bacteriana se realizó mediante la realización de tinción de Gram, según el método descrito por Nugent et al.(28,27) y posterior examinación de la muestra.

El método de puntaje utilizado para diagnóstico que se detalla a continuación, fue desarrollado por la Dra. Ellen Jo Baron (MS. Ph.D., Post-Doc in Clinical Mycobiology and Public Health) a quien se le solicito su permiso para poder ser utilizado en este estudio.

Morfotipo	Numero visto					SCORE
	NINGUNO	1	1-5	5-30	<30	
<i>Gardnerella/Prevotella</i> Cocobacilos Gram variable	0	1	2	3	4	
<i>Mobiluncus</i>	0	1	2	3	4	
<i>Lactobacillus</i>	4	3	2	1	0	
					SCORE TOTAL	

Se realizó la identificación mediante los morfotipos y el diagnostico según el puntaje obtenido los cuales fueron:

- **Normal: 0-3; Intermedio: 4-6; Vaginosis Bacteriana: 7-10**(Ver ilustración 10)

Aquellas muestras en las que no se pudieron encontrar células epiteliales o en número muy escaso fueron clasificadas como “Muestra Inadecuada para el diagnostico de Vaginosis Bacteriana”. La presencia de levaduras, polimorfonucleares, glóbulos rojos, etc., si bien no contribuyen al diagnostico de VB fueron incluidos dentro del reporte en caso de encontrarse presentes en la muestra.

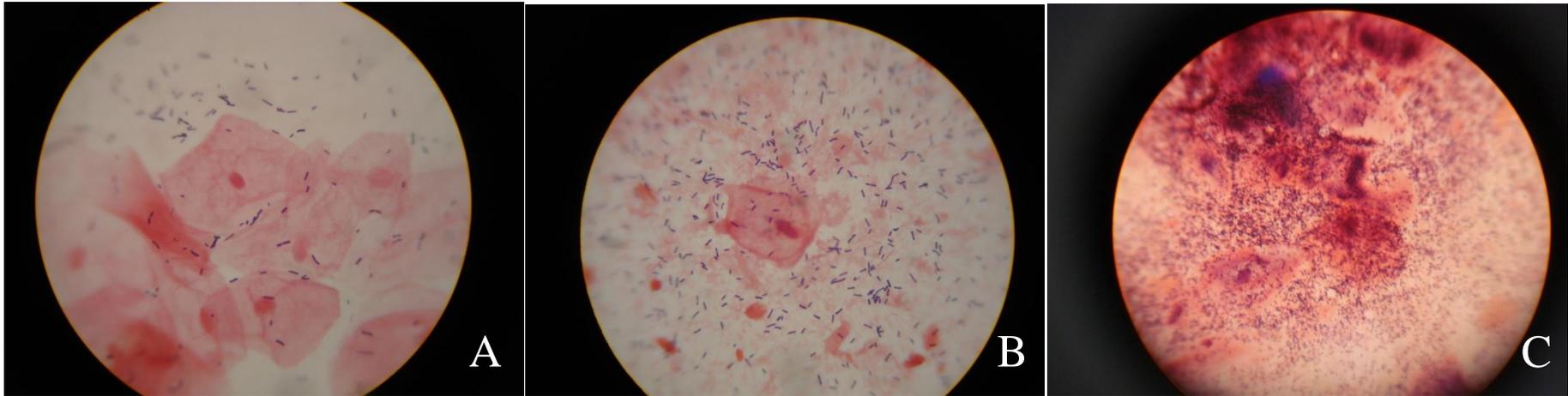
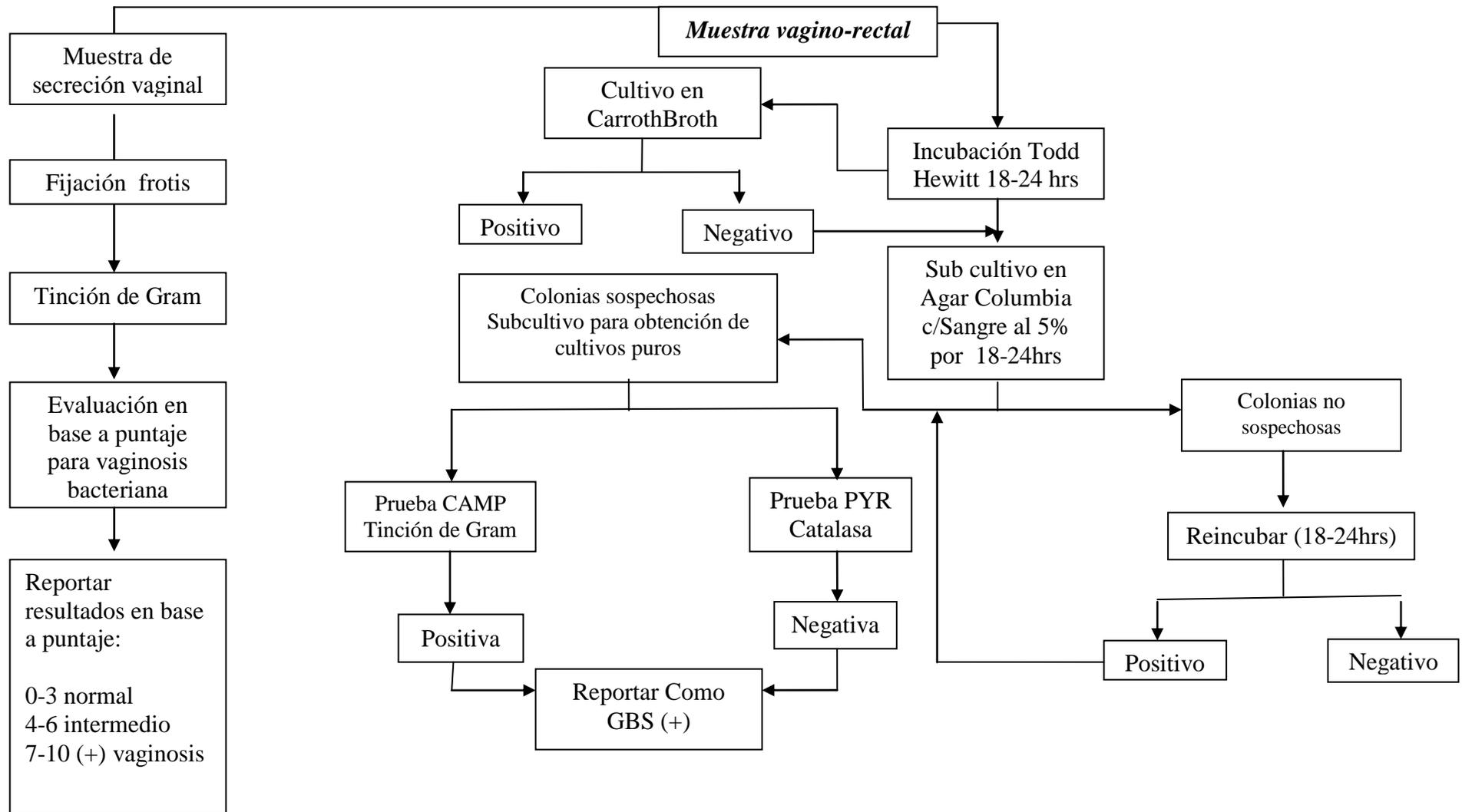


Ilustración 10.

Fotografías ilustrativas de diagnóstico según puntaje: La **Muestra A** corresponde a una secreción vaginal Normal (0-3), observe abundancia de células epiteliales y predominio de lactobacilos; **Muestra B** corresponde a un estadio Intermedio (4-6), hay escasas de células epiteliales y diferentes morfotipos bacterianos; la **Muestra C** representa un caso de VB (7-10) con abundantes bacterias y presencia de células clave.

Ilustración 11. Algoritmo de diagnóstico de Vaginosis Bacteriana y Colonización por GBS



5.4.6 Aspectos éticos a tener en cuenta en las investigaciones con seres humanos

Este protocolo fue sometido a consideración de las autoridades hospitalarias y a evaluación por el comité de ética de la investigación en seres humanos hospitalario.

Los resultados pueden conllevar a acciones terapéuticas, ya que estamos buscando a aquellas mujeres quienes se encuentran colonizadas por GBS o que tienen vaginosis bacteriana, siendo obligación referirlas a tratamiento en caso de encontrarse diagnósticos positivos, para así disminuir las complicaciones causadas por la misma.

En este estudio se respetó la autonomía de cada una de las pacientes; entendiéndose que toda persona competente es autónoma en sus decisiones. Esto refleja el derecho del paciente a aceptar o rechazar un tratamiento, abandonar el estudio en cualquier momento sin comprometer la calidad de atención que se le brindara en centro hospitalario cuando lo necesite; a elegir entre las alternativas terapéuticas o en caso de incapacidad a ser representado.

A todas las pacientes se le informó del objeto del estudio, los beneficios y riesgos de participar en el mismo pasando una forma de consentimiento informado a todas aquellas pacientes que voluntariamente aceptaron ser parte de este estudio (Anexo 1) en la cual se explicaba el objeto del estudio, los beneficios de participar en él y la manera en la que la información personal y de su expediente clínico se mantendría segura y no sería utilizada para otros fines que no estén directamente relacionados con el desarrollo de este estudio; dicho consentimiento, una vez aceptados y comprendidos los términos contenidos en el mismo, fue firmado por la paciente o por un persona responsable o familiar responsable de dicha paciente.

5.5 Reporte de los resultados.

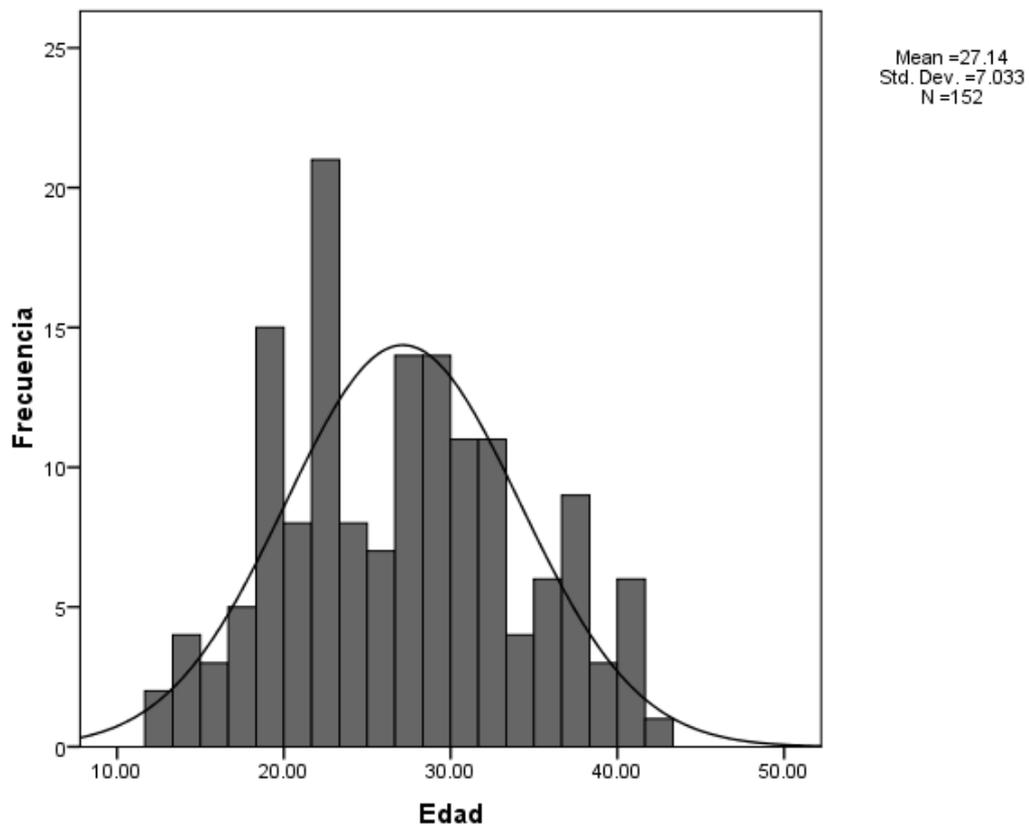
El reporte de los resultados se procuró entregar en un período de 48 a 72 horas desde el momento en que se realizó el inóculo para la incubación. Dicho proceso se realizó mediante la entrega de una tarjeta que contenía los datos de identificación de la paciente y posteriormente fue anexado al cuadro de la paciente.

El objetivo de proporcionar los resultados en un período no mayor al de las 72 horas fue para asegurar, en los casos con resultado positivo, un adecuado tratamiento durante el momento del parto.

VI. Resultados

El presente estudio se realizó en una N de 153 pacientes de la consulta externa de detección de riesgo del HNM las cuales recibieron consentimiento informado y aceptaron su participación voluntaria en el estudio. Los datos obtenidos se analizaron mediante el software SPSS versión 16.

La edad promedio de esta población fue de 27 ± 7 años, y su distribución cumple con las características de una variable normal. Un 82.6% del total de pacientes incluidas en este estudio se encontraba en el rango de edad de los 18-40 años de edad. (Grafica 1)



Grafica 1. Distribución según edad. Nótese la distribución normal de la grafica, con una media de edad de 27 años.

		N	%
Procedencia	Urbana	111	73.0%
	Rural	41	27.0%
	Total	152.0	100.0%
Nivel de escolaridad	Ninguno	19	12.5%
	Básica	33	21.7%
	Tercer ciclo	39	25.7%
	Bachillerato	41	27.0%
	Universitario	20	13.2%
	Total	152	100.0%
	Estado civil	Soltera	26
Casada		41	27.0%
Acompañada		85	55.9%
Viuda		0	.0%
Total		152	100.0%
Ocupación	Desempleada	7	4.6%
	Ama de casa	107	70.4%
	Empleada informal	14	9.2%
	Empleada formal	21	13.8%
	Profesional	3	2.0%
	Total	152	100.0%

Cuadro 8. Características socio demográficos de la población.

El cuadro 8 resume los datos socio-demográficos de la población estudiada. El 73% de esta es de procedencia urbana y el 50% se encuentra en situación de unión estable.

Los resultados obtenidos sobre la escolaridad de las pacientes encuestadas revelan que el 74.4 % de las pacientes recibieron algún tipo de educación básica o media; un 13.2 % de las pacientes poseían estudios universitarios y solamente un 12.5 % de las pacientes no habían recibido ninguna clase de escolaridad. De ellas solamente 25% realizan algún tipo de trabajo por el cual reciben alguna clase de ingresos.

6.1 *Antecedentes Gineco-obstétricos de la población*

		Media	N	%
Número de partos anteriores		1		
Número de abortos		0		
Ruptura Prematura de Membrana en embarazos anteriores (mas 18h)	Si		3	1.97
	No		149	98.03
	Total		152	100
Tratamiento antimicrobiano en embarazos anteriores	Si		25	16.45
	No		127	83.55
	Total		152	100
Complicaciones en Embarazos anteriores	No		121	79.61
	Maternas		11	7.24
	Neonatales		20	13.16
	Total		152	100

Cuadro 9. Antecedentes Obstétricos

El cuadro 9 recoge los datos obstétricos de las pacientes encuestadas. La media de embarazos previos fue de 1 y siendo la media para los abortos de 0

Solamente el 1% de las pacientes estudiadas refirió haber presentado ruptura prematura de membrana en un embarazo anterior y solamente un 16.4% de las pacientes han sido sometidas a tratamiento con antibióticos (incluye medicamento de administración oral y/o endovenosa) en embarazos anteriores.

El 79.6% de la población no ha presentado complicaciones obstétricas anteriores y de aquellas que las han presentado un 13.2% de ellas estuvieron relacionadas al neonato (fiebre, distress respiratorio, sepsis, malformaciones congénitas).

6.2 *Datos sobre Embarazo Actual*

Se incluyeron en este estudio pacientes desde las 28 semanas de gestación hasta el término del embarazo, teniendo una media de 33 semanas 6/7.

		Media	N	%
Semanas de amenorrea		33.67		
Infecciones de transmisión sexual	No		137	90.1%
	VIH		4	2.6%
	VPH		11	7.2%
	Otras		0	0%
	Total		152	100.0%
IVU en Embarazo	Si		78	51.3%
	No		74	48.7%
	Total		152	100.0%
Tratamiento para IVU	Si		58	38.2%
	No		25	16.4%
	no aplica		69	45.4%
	Total		152	100.0%
Leucorrea	Si		85	55.9%
	No		67	44.1%
	Total		152	100.0%
Amenaza de parto prematuro	Si		29	19.1%
	No		123	80.9%
	Total		152	100.0%

Cuadro 10. Representación de variables encontradas en el embarazo actual

El 9.8% de las pacientes presentaron algún tipo de infección de transmisión sexual, siendo la de mayor incidencia el virus de papiloma humano. Más del 50% de las pacientes refirieron haber padecido de infección de vías urinarias (IVU) en el transcurso de su embarazo y solamente el 74% de estas refirieron haber recibido tratamiento. El apartado “No aplica” se refiere a aquellas pacientes que no refirieron haber presentado sintomatología por lo que no se les hizo un diagnóstico ni fueron sometidas a tratamiento antibiótico.

Cerca del 56% de pacientes reconocieron haber presentado leucorrea durante el transcurso de su embarazo y menos del 20% del total sufrieron de uno o más episodios de amenaza de parto prematuro.

6.2.1 Aislamiento de *Streptococcus agalactiae* en la población estudiada

En cuanto a los resultados obtenidos de las pruebas pilotos sobre el uso de medios de transporte y la concentración adecuada de antibióticos se obtuvieron los siguientes datos:

Cuadro 11. Resultado de evaluación de medios de transporte vs Caldo Todd-Hewitt

Cepas <i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Medios de cultivos</i>		
	Amies	Stuart	Todd Hewitt
Cepa de Referencia de Hospital Iero de Mayo	0	0	+
ELS-55	-	+	+++
ELS-85	+	0	+
ELS-76	-	+	+

Nota 3. Se utilizó un puntaje basado en cruces para cuantificar el número de colonias aisladas de la siguiente manera: 0 = menos de 10 colonias; 1+ = 10 – 50 colonias; 2+= 50-100 colonias; 3+= >100 colonias. El prefijo "ELS-"se utiliza para identificar las cepas aisladas a partir de muestras de pacientes salvadoreñas.

El cuadro 11 contiene los resultados obtenidos en la prueba de evaluación de los medios de transporte recomendados para el manejo de las muestras comparadas con la inoculación directa en caldo TH.

El 100% de las cepas inoculadas y cultivadas en el caldo TH se mantuvieron viables y presentaron un crecimiento adecuado en el posterior subcultivo en placas de Agar Columbia con 5% de sangre de carnero. En cambio, al utilizar los medios de transporte se observa cierto grado de inhibición en el crecimiento de las cepas al ser subcultivadas en Agar Columbia.

En el medio de Stuart, que es preparado en el laboratorio del HNM, no se obtuvo crecimiento de la cepa de referencia de GBS y solamente dos de las cepas de aislamiento clínico presentaron crecimiento adecuado. El medio Amies tampoco fue capaz de mantener viable el inóculo de GBS de referencia.

Cuadro 12. Comparación de concentraciones distintas en medio TH para el aislamiento de *S. agalactiae*

Cepas <i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Medios de cultivos</i>	
	Medio TH con Gentamicina (12ug) y Ac. Nalidixico(18ug)	Medio TH con Gentamicina (6ug) y Ac Nalidixico(12ug)
Cepa de Referencia de Hospital Iero de Mayo	0	+
ELS- 76	2 col	+
ELS-55	+	+++
ELS-85	0	+
ELS-74	+	+++
ELS-73	+	+

Nota 4. Se utilizó un puntaje basado en cruces para cuantificar el número de colonias aisladas de la siguiente manera: 0 = menos de 10 colonias; 1+ = 10 – 50 colonias; 2+= 50-100 colonias; 3+= >100 colonias. El prefijo "ELS-" se utiliza para identificar las cepas aisladas a partir de muestras de pacientes salvadoreñas.

El cuadro 12 presenta los resultados obtenidos al evaluar dos concentraciones diferentes de antibióticos en el caldo TH. Se utilizaron discos de sensibilidad para preparar el caldo.

En la concentración 1 (izquierda) se utilizaron dos discos de gentamicina y tres discos de Acido nalidixico mientras que en la concentración 2 (derecha) se utilizó un disco de gentamicina y dos discos de acido nalidixico.

Se puede observar claramente un efecto inhibitorio en las cepas de GBS que fueron inoculadas en el caldo TH con la mayor concentración de antibióticos, ya que si bien se obtuvo crecimiento de algunas cepas inoculadas la cantidad de colonias disminuye en ellas.

Para el transporte y enriquecimiento de las muestras recolectadas se utilizó caldo Todd Hewitt complementado con antibióticos (Acido Nalidixico y Gentamicina) en la concentración descrita en el cuadro 11. Posteriormente se realizó la inoculación en medio Caldo Zanahoria para la identificación de GBS. Simultáneamente se inoculó la muestra en agar Columbia con Sangre de Carnero al 5% para identificación de colonias sospechosas (Ilustración 13).

En el caso del Caldo Zanahoria se observó en las muestras positivas un cambio de coloración del color blanquecino del medio que fue desde un rosa melocotón hasta un naranja. (Ilustración 12)

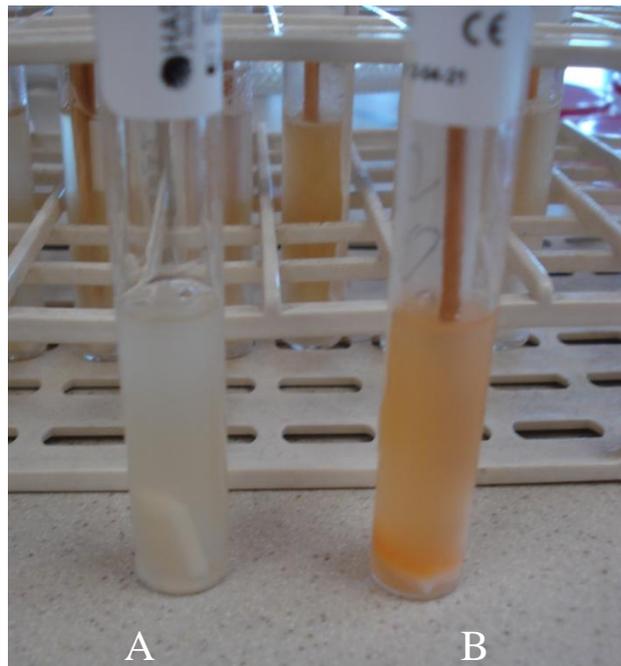


Ilustración 12. Comparación entre un medio CarrothBroth normal (A) y un medio con resultado positivo (B) para GBS. Nótese el cambio de un color blanco a un tono anaranjado.

Paralelamente en los cultivos en Agar Columbia con sangre de carnero al 5% a partir del caldo TH se identificaron colonias sugestivas de GBS, que al ser obtenidas en cultivo puro se describen como colonias de 1 a 2 mm de diámetro, de aspecto mantecoso y con un halo pequeño de beta hemolisis a su alrededor.

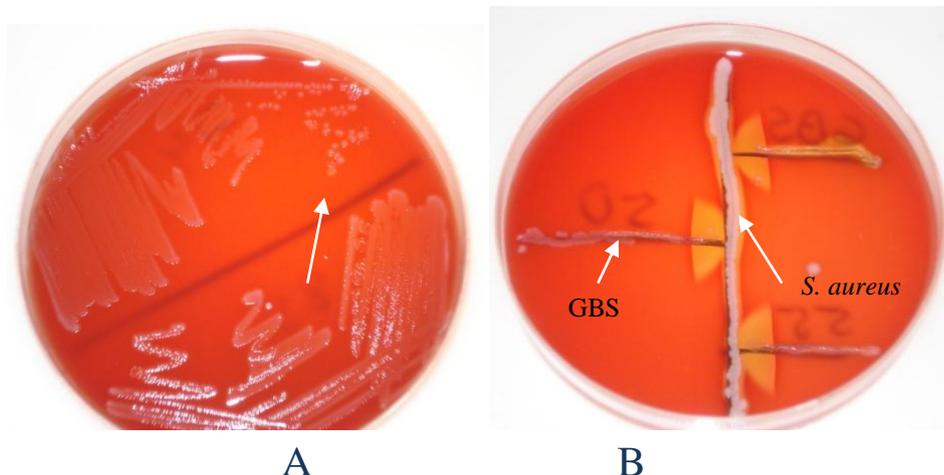


Ilustración 13. Placas con cultivo aislado de GBS: A) Aislado de cepa de obtenido durante la realización del estudio. B) **Prueba de CAMP** positiva en tres muestras obtenidas durante nuestro estudio. Observe la característica punta de flecha formada en entre la cepa de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* dada por la sinergia entre la hemolisina β del primero y el factor CAMP del segundo.

7 de las 150 muestras resultaron positivas para GBS, lo que corresponde a un 4.6% de colonización por esta bacteria en la población estudiada. El 100% de las muestras se identificaron en Caldo Zanahoria y en medio Agar Columbia con Sangre de Carnero al 5% y resultaron PYR negativas y CAMP positivas. Todas las cepas presentaron cadenas largas de cocos a la tinción de GRAM (Cuadro 13).

<i>Cepas Streptococcus agalactiae</i>	<i>Tinción de GRAM</i>	<i>Catalasa</i>	<i>PYR Test Kit and PYR Reagent*</i>	<i>PYR DISC K1538B**</i>	<i>CAMP</i>
Cepa de Referencia Hospital Iero de Mayo	+	-	-	-	+
ELS-50	+	-	-	-	+
ELS-55	+	-	-	-	+
ELS-73	+	-	-	-	+
ELS-74	+	-	-	-	+
ELS-76	+	-	-	-	+
ELS-85	+	-	-	-	+
ELS-99	+	-	-	-	+

*(Hardy Diagnostics) ** (Key Scientific)

Cuadro 13. Resultado de pruebas realizadas para identificación de GBS.

6.2.2 Impacto Económico del Diagnostico de GBS

	<i>Gasto Total</i>	<i>Gasto Por Muestra</i>	<i>Tiempo de Diagnostico</i>
Caldo Zanahoria	683.24 USD	4.5 USD	6-24 hrs
Todd-Hewitt + Agar Columbia Sangre de Carnero 5%	283.08 USD	0.62 USD	72 hrs

Cuadro 14. Comparación del impacto económico y tiempo utilizado entre los medios diagnósticos utilizados.

El cuadro 14, compara las diferencias económicas y el tiempo requerido para el diagnostico según el método utilizado.

El costo total de la utilización del Caldo Zanahoria ascendió a \$683.24 USD representado una gasto por muestra procesada de \$4.5 USD sin embargo el tiempo de procesamiento no excede de 24 horas. Al utilizar el método tradicional (caldo TH + subcultivo en Agar Columbia 5% sangre de carnero) se obtuvo una reducción de \$400 USD, sin embargo se requieren aproximadamente 72 horas para poder tener un diagnostico definitivo.

6.2.3 *Colonización con GBS e implicaciones clínicas*

Cuadro 15. Correlación entre presencia de GBS y variables presentes en el embarazo actual y en embarazos anteriores

		Colonización con GBS			
		Positiva		negativo	
		N	%	N	%
IVU en Embarazo	Si	4	5.1	74	94.9
	No	2	2.7	72	97.3
	TOTAL	6	3.9	146	96.0
Vaginosis Bacteriana	Normal	6	6.1	93	93.9
	Intermedio	0	0	23	100.0
	Vaginosis Bacteriana	1	3.6	27	96.4
	Muestra Inadecuada	0	0	3	100.0
	TOTAL	7	4.6	146	95.4
Leucorrea	Si	2	2.4	83	97.6
	No	4	6.0	63	94.0
	TOTAL	6	3.9	146	96.0
Complicaciones en* Embarazos anteriores	No	5	4.1	116	95.9
	Maternas	1	9.1	10	90.9
	Neonatales	0	0	20	100.0
	TOTAL	6	3.9	146	96.0
Ruptura Prematura de* Membrana (mas 18h)	Si	0	0	3	100.0
	No	6	4.0	143	96.0
	TOTAL	6	3.9	146	96.0

*Variables presentes en embarazos anteriores según datos proporcionados en la entrevista hecha a cada paciente

El cuadro 15 muestra la correlación entre las pacientes que dieron resultado positivo para GBS y las demás variables identificadas durante la realización del estudio.

El 57.1% de las pacientes con resultado positivo a GBS presentaron infección de vías urinarias en algún momento de su embarazo. Solamente 1 paciente (3.6%) fue diagnosticada con VB además de presentar resultado positivo a GBS y solamente 2.4% de las pacientes diagnosticadas con GBS refirieron haber padecido de leucorrea durante el transcurso de su embarazo.

Ninguna de las pacientes con resultado positivo a GBS ha presentado RPM anteriormente y solamente 1 (14.2%) de las pacientes con resultado positivo a GBS presento complicaciones en embarazo anterior siendo estas de índole materna.

El 98% de las muestras recolectadas para diagnostico de VB resultaron adecuadas y solamente tres se clasificaron como “Muestra Inadecuada para diagnostico” debido a la ausencia de células epiteliales.

El 18.7% de las pacientes se diagnosticaron con VB y 15.4%, se diagnosticaron como estadio Intermedio, es decir, en riesgo de desarrollar VB. Esto representa cerca del 35% de pacientes con algún grado de alteración de la flora vaginal normal.

6.2.4 Implicaciones clínicas del diagnóstico de VB

		Vaginosis Bacteriana					
		Normal		Intermedio		Vaginosis Bacteriana	
		N	%	N	%	N	%
Leucorrea	Si	52	61.2	15.0	17.6	18	21.2
	No	46	71.9	8.0	12.5	10	15.6
Total		98	65.8	23	15.4	28	18.8

Cuadro 16. Relación entre la presencia de leucorrea y diagnostico de Vaginosis Bacteriana.

El cuadro 16 correlaciona los datos sobre la presencia de leucorrea y el diagnostico de Vaginosis Bacteriana (VB) por medio de la tinción de Gram de una muestra de secreción vaginal.

Un total de 85 pacientes (55.9%) presentó leucorrea en algún momento de su embarazo, siendo el 21.2% de estas diagnosticadas con VB; un total de 67 pacientes (44.1%) refirieron no haber presentado leucorrea en el transcurso del embarazo, siendo un 71% de estas diagnosticadas como secreción vaginal normal. Del total de pacientes que no refirieron haber tenido leucorrea durante su embarazo, el 15.6% fue diagnosticada con VB y un 12.5% como Intermedio Estas diferencias resultaron no significativas lo cual indica que el diagnóstico de VB es independiente de la presencia o no de Leucorrea.

				Tratamiento									
				No tratamiento		Clotrimazol		Metronidazol		Fluconazol		No aplica	
				N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
L E U C O R R E A	Si	Resultado	Normal	38	73.1%	12	23.1%	1	1.9%	0	0%	1	1.9%
		Vaginosis Bacteriana	Intermedio	9	60.0%	3	20.0%	2	13.3%	1	6.7%	0	0%
			Vaginosis Bacteriana	14	77.8%	3	16.7%	1	5.6%	0	0%	0	0%
		Total	61	71.8%	18	21.2%	4	4.7%	1	1.2%	1	1.2%	
	No	Resultado	Normal	2	4.3%	2	4.3%	1	2.2%	0	0%	41	89.1%
Vaginosis Bacteriana		Intermedio	2	25.0%	0	0%	0	0%	0	0%	6	75.0%	
		Vaginosis Bacteriana	1	10.0%	0	0%	0	0%	0	0%	9	90.0%	
Total		5	7.8%	2	3.1%	1	1.6%	0	0%	56	87.5%		

Cuadro 17. Relación entre el diagnóstico de VB, presencia de leucorrea y tratamiento recibido.

El cuadro 17 representa la relación existente entre las pacientes que presentaron leucorrea, el tratamiento recibido y la presencia o no de VB.

Un 23.6% de las pacientes que no referían haber notado leucorrea durante su embarazo fueron diagnosticados con VB o en estadio Intermedio, un 35% de ellas recibieron algún tipo de tratamiento y el 90% de las pacientes que fueron diagnosticadas con VB y que no refirieron haber presentado leucorrea no recibieron tratamiento alguno previamente.

De las pacientes que presentaron leucorrea durante su embarazo y que fueron diagnosticadas como VB o como estadio Intermedio, 69.6% refirió no haber recibido ninguna clase de tratamiento, 21.2% fue tratado con agentes antimicóticos como clotrimazol o fluconazol y el 9.1% restante recibió tratamiento con metronidazol.

En el grupo de las pacientes que no refirieron haber notado leucorrea durante su embarazo, más del 90% de las pacientes que fueron diagnosticadas con VB o con estadio Intermedio no recibieron tratamiento para esta condición.

		Vaginosis Bacteriana					
		Normal		Intermedio		Vaginosis Bacteriana	
		N	%	N	%	N	%
Amenaza de Parto	Si	18	64.3	5	17.9	5	17.9
Prematuro	No	80	66.1	18	14.9	23	19.0
	Total	98	65.77	23	15.44	28	18.79

Cuadro 18. Relación entre el diagnóstico de VB y antecedentes de Amenaza de Parto Prematuro (APP) en el embarazo actual

El cuadro 18 relaciona los datos obtenidos entre la presencia de VB y APP en el embarazo actual. Un total de 28 pacientes (19.1%) refirieron haber padecido al menos un episodio de Amenaza de Parto Prematuro (APP) en su embarazo actual. De ellas un 17.9% presentaba VB y un porcentaje similar se encontraba en situación de riesgo de VB.

Las pacientes que negaron haber padecido un episodio de APP, 19% fueron diagnosticadas con VB y otro 14.9% se encontraban en situación de riesgo de desarrollar VB en el transcurso de su embarazo.

VII. Discusión

Desde hace más de 30 años se reconoció a nivel mundial el papel que *Streptococcus agalactiae* ocupa dentro de las causas principales de morbi-mortalidad neonatal(32). Esta bacteria ha sido identificada como una de las principales causas de sepsis, neumonía y meningitis, siendo así que un 2% de los neonatos nacidos de pacientes colonizadas corren el riesgo de presentarlas dentro de los primeros 7 días post-parto.(21,32,37,58,59)

Desde su identificación y reconocimiento se han implementado a nivel mundial, principalmente en países industrializados, diferentes métodos de tamizaje y tratamiento oportuno para reducir su incidencia y sus complicaciones.(4,32,60,61) Dichos programas de tamizaje y guías clínicas han tenido un impacto positivo al lograr disminuir de manera considerable la mortalidad asociada a complicaciones por *S. agalactiae* reportando datos tan bajos como 0.4% de mortalidad asociada a GBS.(32)

El objetivo principal de este estudio es determinar la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* y Vaginosis Bacteriana en una población de mujeres embarazadas que se encuentran entre las 28 y 40 semanas de embarazo y que llevaron su control prenatal en la consulta de Detección de Riesgo del Hospital Nacional de Maternidad, San Salvador, El Salvador, durante el periodo comprendido de finales de Noviembre 2011 a inicios del mes de Enero 2012.

Cerca del 90% de las pacientes del estudio se encontraron en el rango de edad de 18 – 40 años, siendo este el rango en donde se encontraron todas las muestras positivas a colonización por GBS. Este grupo en el cual se encuentran las mujeres en edad sexual – reproductiva es el de mayor riesgo de presentar colonización por *Streptococcus agalactiae*(8,45,60,62,63).

Si bien se conocen y se aceptan ciertos factores clínicos de riesgo para la colonización por GBS en el neonato tales como: bacteriuria materna durante el transcurso del embarazo, antecedentes previos de neonato con GBS, corioamnionitis, madre febril durante trabajo de parto, etc., (47,60,62,64), no se ha logrado asociar la presencia de GBS con factores socio-demográficos como etnia, raza, estadio socio-económico, etc.,(60) esto se ha justificado debido a la gran variabilidad con la que el GBS se presenta a nivel mundial(31,61,63)

7.1 Aislamiento de *Streptococcus agalactiae* en la población estudiada

En el presente estudio se utilizaron dos métodos diferentes de cultivo e identificación para GBS; uno de ellos es el medio comercial Carrot Broth (Caldo Zanahoria), fabricado por Hardy Diagnostic, California, USA. Este medio es altamente específico; en este estudio demostró tener la misma sensibilidad y especificidad que el cultivo utilizando medio de enriquecimiento Todd-Hewitt y sub cultivo en Agar Columbia con Sangre de Carnero al 5%, que es considerado el estándar de oro. Este dato es

similar al encontrado por DiPersio et al., quien obtuvo una recuperación del 100% de las cepas cultivadas en Caldo Zanahoria al compararlo con Caldo TH(43) Otros estudios concuerdan con estos resultados, como el realizado por Rosa-Fraile et al(42,65), Church et al(66) y Gupta y Briski(39) en donde se han comparado medios cromogénicos con el método tradicional de cultivo, encontrando una sensibilidad y especificidad igual o mayor al 95%.

El segundo método utilizado en este estudio fue el recomendado por las guías del CDC utilizando un medio de enriquecimiento (Todd-Hewitt) con antibióticos (Ac. Nalidixico + Gentamicina) y posterior subcultivo en medio de Agar Columbia con sangre de carnero al 5%; una vez identificadas las colonias sospechosas se realizaron diferentes pruebas para corroborar el diagnóstico: tinción de Gram para identificación morfológica, Catalasa, PYR y Prueba de CAMP.

En el presente estudio no se utilizaron medios de transporte debido a los resultados obtenidos por las pruebas realizadas en los medios de transporte en las cuales notamos un crecimiento irregular de las cepas de GBS al utilizar dichos medios (Cuadro 11), lo cual nos podría llevar a falsos negativos al momento de realizar los cultivos. Paralelo al procesamiento de las muestras en el laboratorio de la UJMD, el HNM realizó cultivo de las mismas muestras clínicas que se obtuvieron para este estudio obteniendo solo 6 muestras positivas en contraste con las 7 muestras identificadas en el presente estudio. A luz de los resultados presentados en el cuadro 10 presumimos que la razón de esta diferencia es la utilización de los medios de transporte preparados en el hospital por lo cual se hace necesario realizar estudios y pruebas más exhaustivas de estos medios para identificar la causa del fallo en el transporte de las muestras.

DiPersio et al., demostraron que el caldo TH es capaz de mantener las muestras recolectadas viables por al menos 13 días al ser dejado a temperatura ambiente(43); sin embargo la recuperación de colonias se reduce durante los primeros cuatro días, en especial a altas temperaturas, lo cual puede llevar a resultados falso negativos. Si es posible, el espécimen debe ser refrigerado antes de procesarlo.(4,31,32,39,40,45,67-69).

Debido a esto se decidió utilizar directamente el medio de Todd-Hewitt, en el cual una vez tomada la muestra, el hisopo se introducía en el tubo y se mantenía refrigerado (período de aproximadamente 5 horas) hasta su traslado al laboratorio de Microbiología de la UJMD en donde posteriormente era incubado por 18-24 hrs en ambiente de CO₂ para subcultivarlo en placas Agar Columbia. Esta modificación nos permitió no solo recortar costos al no utilizar medios de transporte sino tener una mayor posibilidad de encontrar casos positivos; sin embargo, de acuerdo a las guías proporcionadas por el CDC(63), en aquellos lugares donde no exista la capacidad inmediata de procesamiento de estas muestras es necesario utilizar medios de transporte, refrigerar las muestras hasta su procesamiento y procurar hacerlo durante las primeras 24 horas de recolectada la muestra.(32)

Se identificaron 7 casos positivos a GBS, traducándose en una prevalencia de 4.6% para la población estudiada. Este dato es similar a los encontrados en dos estudios llevados a cabo en el país en el período 2005-2006. El primero fue realizado por Flores Ramos *et al.*, en el Hospital Nacional de Santiago de María, obteniendo una prevalencia de 4.88% (70) ; el segundo realizado por Pérez Cruz *et al.*, en el Hospital Nacional de San Francisco Gotera, Morazán, en donde se obtuvo una prevalencia de 2.22% (71). Estos datos van de acuerdo a la literatura revisada, en donde se acepta que la prevalencia en mujeres embarazadas a nivel mundial puede ir desde un 2.9% hasta un 30%.(3,32,41,72)

A nivel regional, en el área centroamericana existen datos escasos sobre la prevalencia de esta bacteria; así tenemos un estudio realizado por Pereira Quiñones en Ciudad de Guatemala en el período 2002-2003 que incluyo 500 pacientes obteniendo una prevalencia del 14.4%(3); en Nicaragua en el período 2006 – 2008 López Mendiola realizo un estudio en León, que incluía una muestra de 210 pacientes encontrando una prevalencia del 9.5%(5). Se observa entonces que los datos encontrados en nuestro estudio presentan la menor prevalencia en el área centroamericana.

La existencia de una prevalencia de 4.6% en nuestra población, si bien parecería ser insignificante es de suma importancia, ya que se reconoce ampliamente al *S. agalactiae* como un patógeno potencialmente mortal sobre todo para el feto y/o neonato(21,37,63,73,74).

De acuerdo a la encuesta FESAL 2008, la tasa de mortalidad perinatal ha declinado de 26 muertes por cada mil embarazos viables en 1998 a 19 muertes por cada mil embarazos viables en el 2008(75); esta reducción puede ser atribuida a diferentes factores tales como la mejora de la atención materna previo, durante y posterior al parto, así como también a la mejora de la atención neonatal, el uso de nuevas y mejores tecnologías en las áreas de cuidado intensivos, la mejor preparación del personal de salud y por último debido a los cambios culturales en la población de mujeres embarazadas(69–71,75) Sin embargo, no existen datos a nivel nacional sobre cuántas de estas muertes perinatales están directamente asociadas a GBS; se sabe que en países industrializados que reconocieron la necesidad de llevar un sistema de tamizaje para identificar GBS se ha logrado una disminución sorprendente de la mortalidad neonatal relacionada a este patógeno(4,60,73). En Estados Unidos por ejemplo, se redujo de un 8% de muertes neonatales asociadas a GBS al principio de 1996, año en el que se iniciaron a implementar las normas dadas por el CDC, hasta un 0.4% de mortalidad neonatal relacionada a GBS en 2008.(32)

7.2 *Colonización con GBS e implicaciones clínicas*

Se observó que 57.1 % de mujeres colonizadas por GBS habían tenido infección de vías urinarias en el embarazo actual (Cuadro15). Esto concuerda con los datos obtenidos por otros investigadores en donde se reconoce la bacteriuria y la presencia de IVU como un factor de riesgo para colonización con GBS.(31,59,60,63) Las guías clínicas del CDC recomiendan que se realicen urocultivos para descubrir la presencia de bacteriuria asintomática en todas las pacientes embarazadas, enfocando primordialmente a la identificación de GBS(63)

Diferentes autores han descrito la relación entre la presencia de bacteriuria asintomática y el riesgo de colonización rectovaginal en estas pacientes(76–79). Este riesgo aumenta cuando se encuentran conteos en urocultivo de $>10^5$ UFC (unidades formadoras de colonia) de GBS en las muestras de orina. Sin embargo Centelles-Serrano et al., en un estudio conducido en el año 2006 en Tarragona España con 1036 mujeres embarazadas a las que se les realizó urocultivo encontrando que el riesgo de colonización rectovaginal era prácticamente idéntico en aquellas mujeres con recuentos de GBS inferiores a 10^4 UFC/mL a aquellas con recuentos de GBS mayores a 10^4 UFC/mL(80)

En cambio, no se encontró una relación evidente entre la presencia de leucorrea y GBS ya que de las 7 pacientes positivas a GBS solamente 2 (28.5%) de ellas referían haber padecido leucorrea en algún momento de su embarazo y solamente 1 (14.2%) de las pacientes diagnosticadas con GBS fue clasificada como VB.

Datos similares fueron reportados por Ling Z. et al en su descripción de la relación entre el microbioma vaginal y las infecciones del tracto genital femenino en donde demostraron que si bien la presencia de GBS y los cambios relacionados a este en el microbioma vaginal no son considerados normales tampoco se consideran anormales, ya que la presencia de otros morfotipos bacterianos responsables de VB es más bien escasas en estas pacientes, lo que ha llevado a pensar que existe menor riesgo de VB en mujeres embarazadas colonizadas por GBS que aquellas que no lo están(81).

Tampoco se observó en este estudio relación de colonización por GBS con antecedentes de ruptura prematura de membranas de más de 18 horas de evolución (RPM) o complicaciones en embarazos anteriores ya que ninguna de las pacientes colonizada presentó RPM.

Esto difiere con los datos presentados por las guías de CDC para la prevención de la enfermedad por GBS(63) y por autores como Allardice et al(45), Phares et al(31), Puopolo et al(72), Regan et al(73), Apgar et al(60), etc., donde se tiene a la ruptura prematura de membrana como uno de los factores de riesgos clínicos para la infección con GBS. Probablemente la ausencia de esta asociación en este estudio es debida al diseño experimental ya que no se incluyó a esta población dentro de la población objetivo.

7.2.1 Impacto Económico del Diagnostico de GBS

En este estudio se utilizaron dos métodos diferentes para el diagnóstico de *Streptococcus agalactiae* con la finalidad de comparar los costos económicos, el tiempo y personal necesario para su uso y la posibilidad de utilizarlos en nuestro medio.

En el cuadro 14 se presenta un comparación de los gastos incurridos y el tiempo utilizado para el diagnóstico utilizando el Caldo Zanahoria en comparación con el estándar de oro (enriquecimiento en caldo Todd-Hewitt y posterior subcultivo en placas de Agar Columbia con 5% sangre de carnero). Se observa una diferencia de \$400 USD en el costo global de ambos medios, siendo el más caro el Caldo Zanahoria, representando un costo por muestra de \$4.5 USD a comparación con el método tradicional que presenta un \$0.62 USD por muestra.

Una de las ventajas principales al utilizar el Caldo Zanahoria es la reducción del tiempo de diagnóstico de aproximadamente 72 horas del método tradicional a 6 - 24 horas(66) Es además un medio de fácil manejo que puede ser manipulado por personal sin mayor experiencia en el área de laboratorio clínico.

En cambio, al utilizar el método tradicional de diagnóstico, debido a todo el trabajo que conlleva la preparación de los medios, los tiempos de incubación y la realización de pruebas confirmatorias para diagnóstico, este se puede tardar hasta 72 horas. A pesar de ser el método más económico su desventaja radica en lo complicado de su proceso, por lo que para poder realizarlo se necesita de un laboratorio clínico totalmente equipado y personal de laboratorio experimentado en la realización, uso y diagnóstico correcto de este, lo cual a largo plazo podría significar un mayor gasto de recursos humano y económico.

7.3 Diagnostico de Vaginosis Bacteriana

Paralelamente al cultivo para identificación de GBS, se examinaron muestras de la secreción vaginal de cada paciente para realizar diagnóstico de vaginosis bacteriana mediante tinción de Gram(19,20,26,27). Del total de pacientes examinadas, un 18.7% fue diagnosticado con VB y un 15.4% como estadio Intermedio, esto abarca aproximadamente el 35% de la población estudiada.

Sin embargo, a pesar de esto, vemos que la mayoría de estas pacientes no recibió tratamiento alguno o recibieron tratamiento inadecuado, como en el caso de las pacientes con VB que recibieron antimicóticos, y es que en la práctica clínica de nuestro medio el diagnóstico de VB se basa en muchas ocasiones en la experiencia clínica del consultante sin contar con ningún medio de laboratorio disponible para ayudar a confirmar el diagnóstico.

En este estudio no se encontró una asociación significativa entre la presencia de leucorrea y vaginosis bacteriana, lo que nos hace concluir que la presencia de leucorrea no es necesariamente indicativo de la presencia de vaginosis bacteriana.

Es ampliamente aceptado que la VB es un factor de riesgo para muchas complicaciones obstétricas como abortos, amenaza de partos prematuros, ruptura prematura de membranas, corioamnionitis, etc.,(15–17,19,20,24,82,83) y sin embargo en nuestro país no se realizan de manera sistemática métodos de tamizaje adecuados para su diagnóstico y tratamiento oportuno, lo cual de implementarse, podría significar una reducción significativa en la cantidad de abortos, amenazas de parto prematuro, partos prematuros y otras complicaciones relacionadas a VB ayudando así a disminuir sustancialmente el gasto de recursos hospitalarios que se utilizan para el tratamiento y manejo de estas morbilidades.

VIII. Conclusiones.

- Se encontró una prevalencia de *Streptococcus agalactiae* de 4.6% en la población estudiada
- Un 35% de las pacientes estudiadas fueron diagnosticadas con algún grado de alteración de la flora vaginal normal (vaginosis bacteriana o estadio intermedio).
- Se observó que mediante la utilización de un sistema simplificado por medio de puntaje según coloración de Gram se logró identificar 90% de las pacientes que no fueron diagnosticadas con VB en base a criterios clínicos ya que no refirieron haber presentado leucorrea.
- Se demostró que es posible realizar y poner en práctica protocolos para el aislamiento de *Streptococcus agalactiae* y que pueden ser utilizados a nivel institucional en nuestro país.
- El 90% de las pacientes que fueron diagnosticadas con VB y que no refirieron haber presentado leucorrea no recibieron tratamiento alguno previamente.
- El 77.8% de las pacientes que presentaron leucorrea y que fueron diagnosticadas con VB no recibieron tratamiento previo y el 16.7% de estas recibieron tratamiento inadecuado.
- La presencia de infección de vías urinarias en algún momento de su embarazo corresponde al 57.1% de las pacientes con resultado positivo a GBS, representando así un factor de riesgo importante para la colonización rectovaginal.
- No se encontró relación evidente entre la presencia de leucorrea y/o ruptura prematura de membranas de más de 18 hrs de evolución con GBS
- Tanto en el medio de caldo de zanahoria como en el método tradicional (TH + Agar Columbia Sangre carnero 5%) se identificaron el 100% de las muestras positivas para GBS, siendo el más económico a corto plazo el método tradicional.

-
- El Caldo Zanahoria a largo plazo presenta mayores ventajas ya que no requiere de utilización de instrumental de laboratorio sofisticado ni el manejo por personas entrenadas en laboratorio lo que lleva al ahorro de instrumental de laboratorio y de pago de prestaciones a personal de laboratorio.
 - El 75% de las pacientes se encuentran en situación de desempleo.

IX. Recomendaciones

- Ampliar este estudio y llevarlo a otras poblaciones dentro de nuestro país para corroborar nuestros resultados. Incluir otros niveles de atención como, niveles de atención primaria y hospitales de segundo nivel.
- Realizar estudios multicentricos similares al presente en los cuales el periodo de realización se mas extenso e incluya una mayor población y se realice una evaluación exhaustiva de los medios de transporte a utilizar.
- Realizar estudios el cual incluya el seguimiento de los neonatos de las pacientes identificadas como casos positivos, y estudiar su evolución.
- Realizar estudios a nivel de neonatología con el fin de identificar la prevalencia de complicaciones relacionadas directamente a la presencia de GBS en los recién nacidos.
- Dar a conocer la importancia de la identificación, diagnóstico y tratamiento oportuno de ambas entidades (vaginosis bacteriana y colonización por GBS) lo cual debe iniciar desde la formación de los médicos en las aulas universitarias.
- Implementar métodos de tamizaje para la identificación de GBS basados en la utilización de medios de enriquecimiento y/o medios selectivos.

X. BIBLIOGRAFIA

1. Zhao L, Shen J. Whole-body systems approaches for gut microbiota-targeted, preventive healthcare. *J. Biotechnol.* 2010 sep 1;149(3):183–90.
2. Honest H, Bachmann LM, Knox EM, Gupta JK, Kleijnen J, Khan KS. The accuracy of various tests for bacterial vaginosis in predicting preterm birth: a systematic review. *BJOG.* 2004 may;111(5):409–22.
3. Pereira Quiñonez Carmen Esthela. Detección de *Streptococcus agalactiae* en Mujeres Embarazadas que acuden a la Consulta Prenatal del Hospital General San Juan de Dios [Internet]. 2003 Nov [cited 2011 Feb 4]; Available from: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2186.pdf
2. Schuchat A. Epidemiology of Group B Streptococcal Disease in the United States: Shifting Paradigms. *Clin. Microbiol. Rev.* 1998 Jul 1;11(3):497-513.
4. Mendiola Salvador López. Estreptococo B en mujeres con 35 a 40 semanas de gestación atendidas en el HEODRA. 2006-2008 [Internet]. 2010 Mar [cited 2011 Mar 4]; Available from: <http://www.minsa.gob.ni/bns/monografias/2010/Ginobs/03/Estreptococo-B-Mujeres-35-40-Semanas-Gestacion-atendidas-HEODRA2006-2008.pdf>
6. Carmen, Marisela del; Ríos Pacheco, Linda. Agentes causales de vaginosis en mujeres embarazadas de 15 a 30 años de edad que asisten a control prenatal en el hospital nacional «Dr. Héctor Antonio Hernández flores» del municipio de San Francisco Gotera, departamento de Morazán; periodo de julio a septiembre de 2006. [Internet]. Biblioteca Virtual- Universidad de El Salvador. [citado 2011 oct 6]. Disponible a partir de: http://virtual.ues.edu.sv/bvues/index.php?option=com_wrapper&Itemid=290
7. Swadpanich U., Lumbiganon P., Prasertcharoensook W., Laopaiboon M. Antenatal lower genital tract infection screening and treatment programs for preventing preterm delivery (Review). *The Cochrane Library.* 2008;4:19.
8. Berner R. Group B streptococci during pregnancy and infancy. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2002 jun;15(3):307–13.
9. Peterson J, Garges S, Giovanni M, McInnes P, Wang L, Schloss JA, et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.* 2009 dic;19(12):2317–23.
10. Gregory KE. Microbiome aspects of perinatal and neonatal health. *J Perinat Neonatal Nurs.* 2011 jun;25(2):158–62.
11. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SSK, McCulle SL, et al. Colloquium Paper: Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2010 jun;108(Supplement_1):4680–7.

-
12. Donati L, Di Vico A, Nucci M, Quagliozi L, Spagnuolo T, Labianca A, et al. Vaginal microbial flora and outcome of pregnancy. *Arch Gynecol Obstet*. 2009 dic;281(4):589–600.
 13. Lamont R, Sobel J, Akins R, Hassan S, Chaiworapongsa T, Kusanovic J, et al. The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2011 abr;118(5):533–49.
 14. Kubota T, Nojima M, Itoh S. Vaginal bacterial flora of pregnant women colonized with group B streptococcus. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2002 dic;8(4):326–30.
 15. Holst E, Goffeng AR, Andersch B. Bacterial vaginosis and vaginal microorganisms in idiopathic premature labor and association with pregnancy outcome. *J. Clin. Microbiol*. 1994 ene 1;32(1):176–86.
 16. Chawanpaiboon S, Pimol K. Bacterial vaginosis in threatened preterm, preterm and term labour. *J Med Assoc Thai*. 2010 dic;93(12):1351–5.
 17. Mania-Pramanik J, Kerkar SC, Salvi VS. Bacterial vaginosis: a cause of infertility? *International Journal of STD & AIDS*. 2009 oct;20(11):778–81.
 18. Hansen SM, Uldbjerg N, Kilian M, Sorensen UBS. Dynamics of *Streptococcus agalactiae* Colonization in Women during and after Pregnancy and in Their Infants. *J. Clin. Microbiol*. 2004 ene 1;42(1):83–9.
 19. Spiegel CA. Bacterial vaginosis. *Clin. Microbiol. Rev*. 1991 oct 1;4(4):485–502.
 20. Spiegel CA, Amsel R, Holmes KK. Diagnosis of bacterial vaginosis by direct gram stain of vaginal fluid. *J. Clin. Microbiol*. 1983 jul 1;18(1):170–7.
 21. Hansen SM, Uldbjerg N, Kilian M, Sorensen UBS. Dynamics of *Streptococcus agalactiae* Colonization in Women during and after Pregnancy and in Their Infants. *J. Clin. Microbiol*. 2004 ene 1;42(1):83–9.
 22. Hellberg D, Nilsson S, Mårdh P-A. The diagnosis of bacterial vaginosis and vaginal flora changes. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2001 mar;265(1):11–5.
 23. Bartlett JG, Onderdonk AB, Drude E, Goldstein C, Anderka M, Alpert S, et al. Quantitative bacteriology of the vaginal flora. *J. Infect. Dis*. 1977 ago;136(2):271–7.
 24. Eckert LO. Acute Vulvovaginitis. *New England Journal of Medicine*. 2006;355(12):1244–52.
 25. Hillier SL. The Complexity of Microbial Diversity in Bacterial Vaginosis. *New England Journal of Medicine*. 2005 nov 3;353(18):1886–7.

-
26. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am. J. Med.* 1983 ene;74(1):14–22.
 27. Navarrete W P, Domínguez Y M, Castro I E, Zemelman Z R. Evaluación de los criterios de Nugent y Amsel para el diagnóstico de vaginosis bacteriana. *Rev. méd. Chile* [Internet]. 2000 jul [citado 2011 jun 14];128(7). Available a partir de: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872000000700009&lng=en&nrm=iso&ignore=.html
 28. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991 feb;29(2):297–301.
 29. Murray PR, Pfaller MA, Rosenthal KS. *Medical Microbiology*. 5ta. ed. USA: Elsevier; 2005.
 30. FBroks S sMorse snd JSbG. Jawetz, Melnick, & Adelbergs *Medical Microbiology_ 23RD EDITION*. McGrswHil Publishing Compsny,2004; 2004.
 31. Phares CR, Lynfield R, Farley MM, Mohle-Boetani J, Harrison LH, Petit S, et al. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *JAMA.* 2008 may 7;299(17):2056–65.
 32. CDC - 2010 Guidelines for Prevention of Perinatal GBS - Group B Strep [Internet]. [citado 2011 mar 26]. Available a partir de: <http://www.cdc.gov/groupbstrep/guidelines/guidelines.html>
 33. CDC - ABCs: 2009 GBS Surveillance Report - Active Bacterial Core surveillance [Internet]. [citado 2011 abr 2]. Available a partir de: <http://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/gbs09.html>
 34. Perinatal Group B Streptococcal Disease After Universal Screening Recommendations—United States, 2003-2005. *JAMA: The Journal of the American Medical Association.* 2007;298(12):1390 –1392.
 35. Herbert MA, Beveridge CJE, Saunders NJ. Bacterial virulence factors in neonatal sepsis: group B streptococcus. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2004 jun;17(3):225–9.
 36. Lindahl G, Stålhammar-Carlemalm M, Areschoug T. Surface proteins of *Streptococcus agalactiae* and related proteins in other bacterial pathogens. *Clin. Microbiol. Rev.* 2005 ene;18(1):102–27.
 37. Carstensen H, Christensen KK, Grennert L, Persson K, Polberger S. Early-onset neonatal group B streptococcal septicaemia in siblings. *J. Infect.* 1988 nov;17(3):201–4.
 38. Boyer KM, Gotoff SP. Strategies for chemoprophylaxis of GBS early-onset infections. *Antibiot Chemother.* 1985;35:267–80.

-
39. Gupta C, Briski LE. Comparison of Two Culture Media and Three Sampling Techniques for Sensitive and Rapid Screening of Vaginal Colonization by Group B Streptococcus in Pregnant Women. *J. Clin. Microbiol.* 2004 sep 1;42(9):3975–7.
 40. Heelan JS, Struminsky J, Lauro P, Sung CJ. Evaluation of a New Selective Enrichment Broth for Detection of Group B Streptococci in Pregnant Women. *J. Clin. Microbiol.* 2005 feb 1;43(2):896–7.
 41. PhD PRM. *Microbiología Medica*. 5.^a ed. Elsevier Espana; 2006.
 42. Rosa-Fraile M, Rodriguez-Granger J, Cueto-Lopez M, Sampedro A, Gaye EB, Haro JM, et al. Use of Granada Medium To Detect Group B Streptococcal Colonization in Pregnant Women. *J. Clin. Microbiol.* 1999 ago 1;37(8):2674–7.
 43. DiPersio JR, Beach J, Define L. Evaluation of Strep B Carrot Broth and LIM Broth for Long Term Storage/Recovery of Group B Streptococcus. Abstracts of the Annual Meeting of the ASM (C-111).
 44. Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Administración Hospitalaria, Atención Primaria, Bioquímica, Diagnóstico por Laboratorio, Educación Médica, Epidemiología, Infectología, Medicina Familiar, [Internet]. [citado 2011 jun 22]. Available a partir de: <http://www.siicsalud.com/dato/editorial.php/94501>
 45. Allardice JG, Baskett TF, Seshia MM, Bowman N, Malazdrewicz R. Perinatal group B streptococcal colonization and infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1982 mar 15;142(6 Pt 1):617–20.
 46. Lim DV, Morales WJ, Walsh AF, Kazanis D. Reduction of morbidity and mortality rates for neonatal group B streptococcal disease through early diagnosis and chemoprophylaxis. *J. Clin. Microbiol.* 1986 mar 1;23(3):489–92.
 47. Schrag SJ, Gorwitz S, Fultz-Butts K, Schuchat A. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease [Internet]. Report No.: RR-11. Available a partir de: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5910a1.htm>
 48. Easmon CS, Hastings MJ, Deeley J, Bloxham B, Rivers RP, Marwood R. The effect of intrapartum chemoprophylaxis on the vertical transmission of group B streptococci. *Br J Obstet Gynaecol.* 1983 jul;90(7):633–5.
 49. Barber EL, Zhao G, Buhimschi IA, Illuzzi JL. Duration of Intrapartum Prophylaxis and Concentration of Penicillin G in Fetal Serum at Delivery. *Obstetrics & Gynecology.* 2008 ago;112(2, Part 1):265–70.
 50. Woodgate P, Flenady V, Steer P. Intramuscular penicillin for the prevention of early onset group B streptococcal infection in newborn infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;(3):CD003667.
 51. Ohlsson A, Shah VS. Intrapartum antibiotics for known maternal Group B streptococcal colonization. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;(3):CD007467.

-
52. Smaill F. Intrapartum antibiotics for group B streptococcal colonisation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(2):CD000115.
 53. Baecher L, Grobman W. Prenatal antibiotic treatment does not decrease group B streptococcus colonization at delivery. *International Journal of Gynecology & Obstetrics.* 2008 may;101(2):125–8.
 54. Bertini G, Dani C, Cianciulli D, Rubaltelli FF, Nicoletti P. A trial of preventing early- and late-onset Group B streptococcal sepsis with combined intrapartum chemoprophylaxis and universal neonatal screening. *J Perinat Med.* 2006;34(5):420–4.
 55. Stade B, Shah V, Ohlsson A. Vaginal chlorhexidine during labour to prevent early-onset neonatal group B streptococcal infection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;(3):CD003520.
 56. OMS | Guías para el tratamiento de las infecciones de transmisión sexual [Internet]. WHO. [citado 2012 feb 8]. Available a partir de: <http://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/9241546263/es/index.html>
 57. Roura LC. Parto prematuro. Ed. Médica Panamericana; 2004.
 58. Orrett FA. Colonization with Group B streptococci in pregnancy and outcome of infected neonates in Trinidad. *Pediatr Int.* 2003 jun;45(3):319–23.
 59. Verani JR, Schrag SJ. Group B streptococcal disease in infants: progress in prevention and continued challenges. *Clin Perinatol.* 2010 jun;37(2):375–92.
 60. Apgar BS, Greenberg G, Yen G. Prevention of group B streptococcal disease in the newborn. *Am Fam Physician.* 2005 mar 1;71(5):903–10.
 61. Konrad G, Katz A. Epidemiology of early-onset neonatal group B streptococcal infection: implications for screening. *Can Fam Physician.* 2007 jun;53(6):1055, 2001:e.1–6, 1054.
 62. Rocchetti TT, Marconi C, Rall VLM, Borges VTM, Corrente JE, da Silva MG. Group B streptococci colonization in pregnant women: risk factors and evaluation of the vaginal flora. *Arch Gynecol Obstet.* 2010 mar;283(4):717–21.
 63. CDC - 2010 Guidelines for Prevention of Perinatal GBS - Group B Strep [Internet]. [citado 2011 mar 26]. Available a partir de: <http://www.cdc.gov/groupbstrep/guidelines/guidelines.html>
 64. Terry RR, Kelly FW, Gauzer C, Jeitler M. Risk factors for maternal colonization with group B beta-hemolytic streptococci. *J Am Osteopath Assoc.* 1999 nov;99(11):571–3.
 65. Rosa-Fraile M, Sampedro A, Rodriguez-Granger J, Garcia-Pena ML, Ruiz-Bravo A, Haidour A. Pigment Production by *Streptococcus agalactiae* in Quasi-Defined Media. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001 ene 1;67(1):473–4.

-
66. Church DL, Baxter H, Lloyd T, Miller B, Elsayed S. Evaluation of StrepB Carrot Broth versus Lim Broth for Detection of Group B Streptococcus Colonization Status of Near-Term Pregnant Women. *J. Clin. Microbiol.* 2008 ago 1;46(8):2780–2.
 67. Committee on Infectious Diseases and Committee on Fetus and Newborn. Revised Guidelines for Prevention of Early-onset Group B Streptococcal (GBS) Infection. *Pediatrics.* 1997 mar 1;99(3):489–96.
 68. Larsen JW, Sever JL. Group B Streptococcus and pregnancy: a review. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2008 abr;198(4):440–448; discussion 448–450.
 69. Isabel Saffie M. Infección Temprana por Estreptococo beta hemolítico grupo B (EGB).
 70. Flores Ramos GL, Caledonio Blanco HM, Orelallana Ramirez GR. AISLAMIENTO DE Streptococcus agalactiae en saco uterino, tracto urinario y región perianal de mujeres gestantes entre las 35 y 37 semanas atendidas en el control prenatal del hospital nacional de santiago de maria, usulután de julio a septiembre de 2006. [Tesis para optar al Título de Licenciado en Laboratorio Clínico]. [Hospital Nacional de Santiago de Maria, Usulután, El Salvador]: Universidad Nacional de El Salvador; 2006.
 71. Pérez Cruz EM, Sánchez Benavidez YM, Pérez Araujo JR. EXISTENCIA DE Streptococcus agalactiae en secreción de conducto vaginal de mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación, que consultan el servicio de control prenatal en el hospital nacional de san francisco gotera, departamento de Morazán, periodo de julio a septiembre de 2005, y enero a febrero de 2006 [Tesis para optar al Título de Licenciado en Laboratorio Clínico]. [San Francisco Gotera, Departamento Morazán, El Salvador]: Universidad Nacional de El Salvador; 2005.
 72. Puopolo KM, Madoff LC, Eichenwald EC. Early-onset group B streptococcal disease in the era of maternal screening. *Pediatrics.* 2005 may;115(5):1240–6.
 73. Regan JA, Klebanoff MA, Nugent RP. The epidemiology of group B streptococcal colonization in pregnancy. *Vaginal Infections and Prematurity Study Group. Obstet Gynecol.* 1991 abr;77(4):604–10.
 74. Koenig JM, Keenan WJ. Group B streptococcus and early-onset sepsis in the era of maternal prophylaxis. *Pediatr. Clin. North Am.* 2009 jun;56(3):689–708, Table of Contents.
 75. :: Encuesta Nacional de Salud Familiar :: FESAL :: National Family Health Survey :: [Internet]. [citado 2012 ene 27]. Available a partir de: <http://www.fesal.org.sv/2008/informe/resumido/11-MortalidadInfantil.htm>
 76. Wood EG, Dillon HC Jr. A prospective study of group B streptococcal bacteriuria in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1981 jul 1;140(5):515–20.

-
77. Persson K, Christensen KK, Christensen P, Forsgren A, Jörgensen C, Persson PH. Asymptomatic bacteriuria during pregnancy with special reference to group B streptococci. *Scand. J. Infect. Dis.* 1985;17(2):195–9.
 78. Aungst M, King J, Steele A, Gordon M. Low colony counts of asymptomatic group B streptococcus bacteriuria: a survey of practice patterns. *American journal of perinatology.* 2004;21(7):403–7.
 79. Anderson BL, Simhan HN, Simons KM, Wiesenfeld HC. Untreated asymptomatic group B streptococcal bacteriuria early in pregnancy and chorioamnionitis at delivery. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* 2007 jun;196(6):524.e1–524.e5.
 80. Centelles-Serrano MJ, Pérez-Moreno MO, Llovet-Lombarte MI, Cortell-Ortolá M, Jardí-Baiges AM, Buj-González JI. [Effectiveness of systematic investigation for Group B Streptococcus in urine samples to identify colonized pregnant women]. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2009 sep;27(7):394–8.
 81. Ling Z, Liu X, Chen X, Zhu H, Nelson KE, Xia Y, et al. Diversity of Cervicovaginal Microbiota Associated with Female Lower Genital Tract Infections. *Microb Ecol.* 2011 feb;61(3):704–14.
 82. Berek JS. *Berek & Novak's Gynecology.* Fourteenth. Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
 83. Swadpanich U, Lumbiganon P, Prasertcharoensook W, Laopaiboon M. Antenatal lower genital tract infection screening and treatment programs for preventing preterm delivery. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;(2):CD006178.

XI ANEXOS

11.1 Anexo 1. Consentimiento Informado

**Consentimiento Informado para las pacientes elegibles a participar en el estudio:
“Detección de *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas que acuden a la
consulta de control prenatal en Hospital Nacional de Maternidad”.**

Investigadores Principales: Médicos In fieri José Francisco López (77374496) y Raúl José Madrid Zepeda (74596936) (Médicos Egresados UJMD).

Usted está siendo invitada a participar como voluntaria dentro de un estudio sobre la presencia de *Streptococcus agalactiae* y *vaginosis bacteriana* en mujeres embarazadas que acuden a la consulta prenatal del Hospital Nacional de Maternidad. Ambas son enfermedades causadas por bacterias que afectan a las mujeres embarazadas y que ponen en riesgo al bebe ya que este se puede enfermar por estas o nacer antes de tiempo y tener que ser hospitalizado.

Durante el estudio será entrevistada acerca de usted, su trabajo, familia y embarazos anteriores. Además se le solicita consentimiento para revisar su historial médico. Su información será mantenida en la confidencialidad de acuerdo a la práctica médica estándar. Su nombre no será utilizado en ningún reporte o publicación resultante de este estudio. La información del estudio será guardada en archivos confidenciales. Solo el personal tendrá acceso a los archivos, cuando sea necesario. Si usted acepta participar en este estudio, esta información será parte de su historia clínica y será confidencial.

Se le realizara una toma de la secreción vaginal y de la región anal mediante la utilización de un hisopo. Este procedimiento no lleva ningún riesgo para usted o su bebe en ninguna manera.

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

El principal beneficio que va a poder tener si usted desea participar, es el de recibir información acerca de su condición, su tratamiento de ser necesario y cómo prevenir esta condición. Su participación además ayudará a adquirir un mejor entendimiento de tratamiento, control y prevención de la enfermedad.

Los doctores Raúl José Madrid Zepeda y José Francisco López Escobar son los responsables de responder cualquier pregunta que usted pueda tener sobre este estudio y los puede contactar a los teléfonos que están arriba.

El firmar este documento no le compromete a nada y es libre de negarse a participar o de abandonar el estudio cuando quiera en el momento que lo desee sin tener que dar explicaciones, únicamente poniéndolo por escrito y quedara en su expediente.

CONSENTIMIENTO VOLUNTARIO

He leído o me han leído la hoja de información.

He podido preguntar mis dudas con respecto a los procedimientos de la toma de muestra durante el estudio y me las han contestado bien y recibido suficiente información.

Se me ha explicado que mi deseo de participar es voluntario y puedo retirarme cuando lo desee sin necesidad de dar explicaciones y sin perder ningún derecho.

Doy permiso a que se puedan realizar estudios sobre los datos de mi historia clínica.

Doy permiso a que se puedan las muestras necesarias de mi persona para la realización de este estudio.

Firma Testigo

DUI

En caso de menor de edad firma de responsable

11.2 Anexo 2. Entrevista

Prevalencia de *Streptococco agalactiae* en mujeres embarazadas que asisten a su control prenatal en la consulta externa del Hospital de Maternidad, San Salvador, El Salvador, 2011.

DATOS GENERALES.

Ficha N _____ Fecha de toma de muestra. _____
N° Expediente _____
Nombre: _____ Edad. _____
Dirección _____ Urbano _____ Rural. _____
Escolaridad _____ Ocupación _____
Estado civil: Soltera _____ Casada _____ Acompañada _____

DATOS CLINICOS:

Antecedente Gineco- Obstétricos:

G _____ P _____ P _____ A _____

Fecha de finalización ultimo parto: _____

FUM _____ FPP _____ Amenorrea: _____

I.V.U durante el embarazo: SI _____ No _____ Tx: _____

Leucorrea durante el embarazo: SI _____ No _____ Tx: _____

A. P. P: SI _____ No _____

Enfermedad de transmisión sexual SI _____ NO _____

Horas de R.P.M. mayor de 18 horas en embarazos anteriores: SI _____ NO _____

Temperatura mayor de 38° C: SI _____ NO _____

Antibiótico-terapia en embarazos anteriores: SI _____ NO _____

Neonato con sepsis, neumonía o meningitis en embarazos anteriores: SI _____ NO _____

Datos del laboratorio

Tipo de Muestra: Vagino-Rectal: _____

Muestra Vagino – rectal (resultado): _____

11.3 Anexo 3. Tarjeta de Identificación

**Diagnostico de Viaginosis Bacteriana y
Aislamiento de Estreptococo en
Mujeres Embarazadas**

**(En caso de embarazo subsecuente
presentar esta tarjeta)**

Tarjeta de identificación:

NOMBRE _____

EDAD _____ G _ P _ P _ A _ V _

FUR _____

FPP _____

FECHA DE TOMA DE MUESTRA _____ SEMANAS DE AMENORREA _____

ALERGICA A PNC? SI NO

RESULTADO DE CULTIVO (GBS) _____
