

NEONATOLOGÍA

DETECCIÓN DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE EN MUJERES DE 35 – 37 SEMANAS DE GESTACIÓN: PROPUESTA DE PROTOCOLO DE TRABAJO EN EL LABORATORIO CLÍNICO

María Eugenia Delgado Picado • Especialista en Bacteriología Médica en Hospital de las Mujeres Dr. Adolfo Carit Eva, CCSS

Kattia Mena Young • Especialista en Gestión Calidad en Microbiología y Química Clínica en Hospital de las Mujeres Dr. Adolfo Carit Eva, CCSS

SUMMARY

Streptococcus agalactiae is a common microorganism found in the gastrointestinal and genital tract of pregnant women, which may be invasive due to a polysaccharide capsule that surrounds it, and allows it to ascend from the vagina into the amniotic fluid, cross through the membranes, breaking them or not, and infecting the fetus. Protocols to detect this germ between weeks 35-37 of pregnancy have changed the epidemiology and the management of neonatal sepsis by *Streptococcus agalactiae*, therefore implementing them represents one of the critical

factors in the prevention of early neonatal infections due to this agent.

Keywords: agalactiae, streptococcus agalactiae, pregnancy, streptococcus agalactiae pregnant

INTRODUCCIÓN

Streptococcus agalactiae ó estreptococo B hemolítico grupo B (EGB) es un coco Gram positivo, beta hemolítico en la mayoría de los aislamientos en el medio de cultivo Agar Sangre; anaerobio facultativo, catalasa y oxidasa

negativo. Es un microorganismo habitual en el tracto genitourinario y gastrointestinal del ser humano, con un alto potencial invasivo gracias a factores de virulencia como la cápsula de polisacáridos que lo recubre, lo que le permite ascender, en mujeres embarazadas, desde la vagina al líquido amniótico, atravesar las membranas amnióticas con ó sin rompimiento de las mismas e infectar al feto. La transmisión vertical del agente desde la madre al feto es la principal causa de sepsis neonatal temprana por EGB^{5,9}. La colonización de

Recibido: 20 de Enero del 2017.

Revisado: 15 de Febrero del 2017.

Aceptado: 02 de Marzo del 2017.

EGB (genital y anal) ocurre asintómicamente entre 5-30% de mujeres embarazadas a nivel mundial, y en ausencia de medidas de prevención es uno de los más importantes factores de riesgo identificados para el desarrollo de sepsis neonatal, bacteremia y meningitis en los primeros diez días de vida, conocida como sepsis neonatal temprana. También está asociado a infecciones neonatales de inicio tardío (después de 10 días de nacido) y que afecta a niños aparentemente sanos y nacidos por parto normal. En las gestantes y puerpéreas puede manifestarse como muertes intrauterinas, ruptura prematura de membranas, abortos espontáneos, partos pre término con niños de bajo peso, endometritis pos parto e infecciones en piel y tejidos blandos postcirugía^{9,10,12,14}. Las guías aportadas por los Centers for Disease Control and Prevention: Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease Revised Guidelines from CDC⁴ y sus revisiones, cambiaron la epidemiología y el manejo de la sepsis neonatal por *Streptococcus agalactiae* en los últimos años, a partir de la implementación de medidas profilácticas dirigidas a la oportunidad de detección del germen entre las 35-37 semanas de gestación, cercano a la finalización del embarazo aumentando la posibilidad de aislar el germen,

por su condición intermitente tanto en tracto genitourinario como gastrointestinal y a la administración de antibióticos a las madres portadoras, antes ó durante el trabajo de parto, logrando cerca del 90% de efectividad en la prevención de sepsis neonatal por éste agente^{2,4,5,9}. En Costa Rica, en el Hospital de las Mujeres Dr. Mujeres Dr. Adolfo Carit Eva, Caja Costarricense de Seguro Social el seguimiento del estreptococo del grupo B (EGB) en mujeres gestantes se implementó en forma rutinaria en la institución desde el año 2002 hasta la fecha y abarca a toda paciente de la consulta de control prenatal que se encuentre entre las 35-37 semanas de gestación^{2,6}. El protocolo fue mejorado gracias a revisiones continuas y actualmente contempla una serie de requisitos en cuanto a tipos de muestras, estudios microbiológicos a realizar y metodología a emplear para la prevención de la infección neonatal por EGB^{2,4}.

I- Toma de muestra: Tamizaje para Estreptococo del Grupo B en mujeres gestantes

La esencia del protocolo de tamizaje para EGB es lograr la identificación adecuada del microorganismo, en madres portadoras asintomáticas, por lo cual la toma de muestra tiene que ser representativa y adecuada al

propósito, cumpliendo criterios de calidad preanalíticos generales en cuanto a recolección, toma y transporte de muestras^{3,4,6}.

- a. La embarazada no debe de estar recibiendo tratamiento antibiótico al momento de cualquiera de las tomas de muestra para análisis bacteriológico en busca de EGB, porque el tamizaje podría dar falso negativo por inhibición del microorganismo.
- b. El personal médico o de enfermería son los responsables de la toma de muestra y deben seleccionar el lugar anatómico correcto para la toma de la misma.
- c. La toma de muestra para los cultivos microbiológicos es externa: exudado del tercio externo de la vagina (sin espéculo) y del exudado ano rectal, sobre las criptas anales⁴.
- d. Se recomiendan dos aplicadores de algodón estériles para la toma de muestra, uno para el introito vaginal ó la entada externa de la vagina (sin espéculo) y otro para el introito anal, con el fin de que a nivel práctico de cultivo, aumentar la posibilidad de detección del agente cuando se encuentre en pequeñas cantidades en cualquiera de los dos sitios anatómicos, y a la vez obtener

un mejor aislamiento y separación de las colonias. En teoría, es de esperar que el introito anal presente una mayor densidad microbiana que el introito vaginal, facilitando el aislamiento y posterior identificación del germen².

- e. Una muestra representativa debe de ser tomada girando cada aplicador suavemente, en forma rotativa, en cada sitio anatómico descrito anteriormente, de tal forma que el aplicador se impregne de suficiente exudado y aumente la probabilidad de detección del agente. En caso contrario se contribuye al reporte de falsos negativos.
- f. Colocar los dos aplicadores dentro de un mismo tubo de vidrio estéril. Es indistinto cual de los dos aplicadores corresponde a cada sitio anatómico.
- g. Identificar inmediatamente con el nombre de paciente y número de asegurado, el tubo con los aplicadores.
- h. Las muestras deben ser enviadas rápidamente al laboratorio debidamente rotuladas y consignarse en la orden de análisis clínico "Tamizaje por EGB ó cultivo para detección por EGB"³.
- i. Para mantener la trazabilidad de las muestras durante todo el proceso, cada orden presenta

los datos demográficos y clínicos más relevantes de la paciente, indicando que la paciente está entre las 35-37 semanas de gestación y alguna otra condición clínica que el médico considere importante como por ejemplo: si hay alergia a la penicilina, amenaza de parto pretérmino, ruptura prematura de membranas entre otras.

II- Detección de EGB por cultivo microbiológico

Existen varias alternativas para la identificación del EGB. Una de ellas es el cultivo del EGB en medios como el caldo de enriquecimiento selectivo Todd-Hewitt ó caldo Lim por 18-24 horas a 35-37°C y de ahí se pasa ó a Agar Sangre ó agar Granada ó agar Columbia ó a medio Cromogénico, incubando 18-24 horas más, a 35-37°C en aerobiosis^{2,4,5,8}. El Laboratorio Clínico del Hospital de las Mujeres Dr. Adolfo Carit Eva, siembra las muestras de tamizaje directamente en medios sólidos de agar cromogénico, el cual, ya de por sí es altamente selectivo contra Gram negativos, Gram positivos y hongos. Cada aplicador se siembra, por separado, girando el aplicador suavemente sobre una pequeña porción del medio, para posteriormente aplicar la técnica de aislamiento por rayado microbiológico en búsqueda de la separación de colonias⁸. Los

medios se incuban por 18-24 horas 35-37°C en aerobiosis, si las colonias esperadas no son visibles ó se observa un crecimiento muy pobre después de 24 horas de incubación, las placas se reincuban hasta por 24 horas más y se reexaminan a las 48 horas antes de dar un reporte final negativo por EGB. En el medio cromogénico, el *Streptococcus agalactiae* se revela con una apariencia de colonias de color malva o rosadas, distinguiéndose de otros tipos de colonias que no son EGB, como el *Enterococcus faecalis*^{11,13}.

III- Identificación y prueba de sensibilidad antibióticos ó antibiograma

Con el fin de proveer información oportuna para la elección del antimicrobiano más adecuado³, el Laboratorio Clínico del Hospital de Las Mujeres realiza la identificación y sensibilidad a antibióticos por método automatizado, cuyo reporte final se da por género y especie del microorganismo y por concentración inhibitoria mínima (MIC) en el caso de la PSA, estableciendo una calificación de sensible, intermedio y resistente a los antibióticos^{1,7,12,14}. Esta actividad permite reconocer cepas resistentes y aportar al médico tratante, alternativas en antibioticoterapia según el esquema de profilaxis establecido en la institución,

donde la ampicilina suele ser el medicamento de preferencia^{3,6}.

Lecciones aprendidas en la implementación del Protocolo de Tamizaje por EGB

La infección por EGB es una causa de morbi-mortalidad neonatal y una de las mayores fortalezas en la prevención de la misma es la sistematización e implementación de protocolos y la capacidad de la vinculación profesional para el cumplimiento de los mismos. Es un trabajo conjunto basado en la comunicación adecuada e incluye a profesionales de enfermería obstétrica, médicos, administración, farmacia y laboratorios clínicos, entre otros. Uno de los requerimientos más importantes del protocolo de tamizaje por EGB, es minimizar los falsos negativos, porque implica un alto riesgo de sepsis neonatal por EGB. Los factores comunes que influyen en la NO detección de EGB pueden ser: inadecuada recolección y transporte de las muestras; tipo de material para la toma de muestra, tiempos prolongados entre la obtención de la muestra y el procesamiento de la misma (más de dos horas); baja sensibilidad de medios de cultivo utilizadas para la detección del EGB en los laboratorios clínicos y por último la no presencia del microorganismo en los sitios anatómicos muestreados durante el período de tamizaje, dado el carácter intermitente de

portadora por EGB de la paciente. Dentro de los factores claves, la identificación del germen y el antibiograma son muy importantes para que los médicos puedan aplicar correctamente los esquemas de profilaxis existentes. La utilización de medios de cultivo cromogénicos, donde las colonias de EGB se observan de color malva/rosada metálico y brillante, con un anillo fusia que bordea la periferia de la colonia, comparados con medios como el agar sangre, aportan una mejor de detección del agente. En los medios de cultivo como el agar sangre, las colonias de EGB se identifican visual y presuntivamente como colonias beta hemolíticas y aparentemente sería fácil su identificación y antibiograma si se obtuvieran cultivos puros del microorganismo y todas los aislamientos fueran beta hemolíticos, pero lo cierto es que los sitios anatómicos de donde se obtienen los cultivos: tracto gastrointestinal y tracto genital, son por naturaleza puntos de muestreo de muchos microorganismos que acompañan al EGB y que también crecen en el agar sangre, dificultando el reconocimiento de colonias sospechosas de EGB, que pueden confundirse con otras colonias ó escaparse al ojo humano por encontrarse en pequeña cantidad, diluyéndose con el resto de la flora bacteriana que pudiera

estar presente. En relación a las prueba de sensibilidad a los antibióticos la experiencia aporta casos de resistencias inesperadas, principalmente para clindamicina, por lo cual se seguirá documentando las resistencias antimicrobianas del EGB como parte de un protocolo de prevención posterior, aunado principalmente al reporte de casos en otras latitudes, de la resistencia del germen a fármacos como clindamicina y eritromicina. Finalmente, aunque no forma parte del protocolo de tamizaje por estreptococos EGB, el laboratorio del Hospital de las Mujeres Dr. Adolfo Carit Eva, actualmente reporta la identificación y antibiograma de cualquier urocultivo positivo por *Streptococcus agalactiae* con más de 1000 UFC/ mL, en mujeres embarazadas, independientemente de la edad gestacional. El aislamiento en urocultivos, del agente, en agar sangre, no suele dificultarse debido a que en la mayoría de casos las infecciones en el tracto urinario son monomicrobianas y sus características de morfotipo colonial son identificables. La correcta metodología para el aislamiento del EGB, lleva a su vez a una correcta identificación y PSA del agente, aportando datos de valor diagnóstico al médico tratante, que repercuten en una atención con calidad y

seguridad de la paciente en la consulta de control prenatal y disminuyen el riesgo de sepsis neonatal temprana.

RESUMEN

El *Streptococcus agalactiae* es un microorganismo habitual en el tracto genitourinario y gastrointestinal de la mujer gestante con una alto potencial invasivo gracias a la cápsula de polisacáridos que lo envuelve y que le permite ascender desde la vagina al líquido amniótico, atravesar las membranas amnióticas con o sin rompimiento de las mismas e infectar al feto. Los protocolos de detección del germen entre la 35-37 semanas de embarazo, han cambiado la epidemiología y el manejo de la sepsis neonatal por *Streptococcus agalactiae*, por lo que, establecer los mismos, representan uno de los factores críticos de éxito en la prevención de la infección neonatal temprana causada por el agente.

Palabras clave: *agalactiae*, *streptococcus agalactiae*, *streptococcus agalactiae* y embarazo, *streptococcus agalactiae* en mujer embarazada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abarzua, F., Argomedo, C., & Meissner, A. e. (2014). Prevalencia de portación vaginal-anal de *Streptococcus agalactiae* en el tercer trimestre de gestación y susceptibilidad a macrólidos y lincosamidas, en mujeres embarazadas de Clínica Alemana Temuco, Chile. *Rev. Chilena Infectol*, 3, 305-308.
2. Alós Cortés, J., Andreu Domingo, A., & al, e. (2013). Prevención de la Infección Perinatal por estreptococo del grupo B. Recomendaciones españolas. Actualización 2012. Documento de consenso SEIMC/SEGO/SEN/SEQ/SEMFYC. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, v. 31 n.3, 159-172.
3. CCSS, Caja Costarricense de Seguro Social. (2015). Tamizaje en Mujeres gestantes para Estreptococo del Grupo B (EGB). Lineamiento Técnico LT.GM.DDSS. AAP.260615, 1-5.
4. Centers for Disease Control and Prevention, C. (2010). Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease Revised Guidelines from CDC. *MMWR*, v.59 n.RR-10, 11-36.
5. Creti, R., & al, e. (2013). Characteristics of neonatal GBS during a multicentre study (2007-2010) and in the year 2012. *Ann Ist Sanita*, v.49 n.4 (DOI 10.4415/ANN_13_04_09), 370-375.
6. Delgado Picado, E., Carmen, S. S., & Calderón Zúñiga, A. (2004). Tasa de Colonización del *Streptococcus agalactiae* en gestantes y neonatos, Hospital de las Mujeres Dr. Adolfo Carit Eva. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, v.25 n. 1-2 (ISSN 0253-2948), 23-25.
7. Emaneimi, M., & al., e. (2014). High Incidence of Macrolid and tetracycline resistance among *Streptococcus agalactiae* strains isolated from clinical samples in Tehran, Iran. *Maedica-a Journal of Clinical Medicine*, v.9 n.2, 157-161.
8. Kwatra, G., & Madhi, S. e. (2013). Evaluation of Trans-Vag Broth, Colistin- Nalidixic Agar, and CHROMagar Strep B for detection of Group B *Streptococcus* in Vaginal and rectal swabs from Pregnant Women in South Africa. *Journal of Clinical Microbiology*, v.51 n.8, 2515-2519.
9. Landwehr-Kenzel, S., & al., e. (2014). Interaction of *Streptococcus agalactiae* and cellular innate immunity in colonization and disease. *Frontiers in Immunology*, v.5 (DOI: 10.3389/fimmu.2014.00519).
10. Morita, T., Feng, D., & Kamio, Y. e. (2014). Evaluation of chromID strepto B as a screening media for *Streptococcus agalactiae*. *BMC Infectious Diseases*, v.14 n.46.
11. Savini, V., & Gherardi, G. e. (2015). *Coul B-hemolytic, group B Enterococcus faecalis* be mistaken for *Streptococcus agalactiae*? *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 82, 32-33.
12. Shah, B. A., & Padbury, J. F. (2014). Neonatal Sepsis An old problem with new insights. *Virulence*, v.5 n.1, 170-178.
13. Verhoeven, P., & Noyel, P. e. (2014). Evaluation of the New Brilliance GBS Chromogenic Medium for Screening of *Streptococcus agalactiae* vaginal colonization in pregnant women. *Journal of Clinical Microbiology*, v.52 n.3, 991-993.
14. Woldu, Z. (2014). The prevalence of Group B *Streptococcus* recto-vaginal colonization and a antimicrobial susceptibility pattern in pregnant mothers at two hospitals of Addis Ababa, Ethiopia. *Reproductive Health*, v.11 n. 80.