



Universidad Nacional del Nordeste
FACULTAD DE MEDICINA

*“Especialización en Bacteriología
Clínica”*

**COLONIZACION Y PERFIL DE
RESISTENCIA DE STREPTOCOCCUS
AGALACTIAE EN GESTANTES DEL
HOSPITAL REGIONAL DE ENCARNACION.**

Alumna: Mirta Soledad Arapayú Villalba.

Director: Dr. José Plans

Encarnación – Paraguay

Año: 2014

Dedicatoria y Agradecimiento

Agradezco a Dios por iluminar mis pasos y mostrarme todos los días lo maravilloso de la vida.

A mis Padres por el cariño recibido y por inculcarme los valores de la vida y la perseverancia sobre todo en el estudio.

A mis hermanas y hermano, por la tolerancia y la paciencia en momentos más difíciles.

A mis sobrinos por iluminar la casa y llenarnos de alegría.

A mis compañeras de trabajo por el día a día, la tolerancia y el compañerismo en momentos de clases.

A María Teresa Lezcano por orientarme y ayudarme en este trabajo.

Al Dr. José Plans por aceptar ser el tutor del trabajo y acompañarme en este desafío.

Dedicado: a mis Abuelos que aunque no están más conmigo, seguro desde el cielo estarán orgullosos de mí.

INTRODUCCION:

El Estreptococo Beta-Hemolítico del Grupo B (SGB) o *Streptococcus agalactiae* es uno de los principales agentes causantes de sepsis neonatal precoz. Puede encontrarse, según la literatura internacional, como colonizante vaginal y/o rectal alrededor del 20% (con un rango de 10 a 40%) en mujeres embarazadas y no embarazadas. La mortalidad de los afectados oscila entre el 6 y el 20 % y la tasa de secuela neurológica llega al 30% (1). El SGB es un coco Gram positivo, catalasa y oxidasa negativa, anaerobio que se presenta formando cadenas, puede crecer en medios simples, aunque los medios suplementados con sangre favorecen su identificación y crecimiento.

El SGB forma parte de la flora intestinal y coloniza el área perineal y el tracto genital. En gestantes la colonización de este microorganismo adquiere una especial importancia por la posibilidad de transmisión al recién nacido y por ser una causa frecuente de infecciones durante la gestación y el puerperio, causando infecciones urinarias, endometritis puerperal e infecciones en heridas quirúrgicas. Es la causa más frecuente de sepsis bacteriana y meningitis neonatal.

Se conocen diferentes factores obstétricos que favorecen el desarrollo de la infección en el recién nacido, fundamentalmente, parto pre-termino, rotura prolongada de membranas, bacteriuria por SGB durante el embarazo, entre otros.

La enfermedad neonatal producida por esta bacteria sigue uno de dos patrones siguientes: en la sepsis temprana del recién nacido los síntomas aparecen dentro de las primeras semanas de vida, sobre todo en las 48 horas. En la sepsis tardía las manifestaciones clínicas tienen lugar en la tercera o cuarta semana de vida.

Entre el 40 a 72% de los recién nacidos de madres portadoras de SGB se colonizan durante el parto y de ellos el 1 a 2 % desarrolla enfermedad invasiva de origen precoz (2).

La prevalencia de colonización por SGB en embarazadas tiene un rango de 10 al 30% (3).

Se han determinado tasas de colonización que oscilan entre 5 y 35% en gestantes, esta variación depende de la población en estudio, los medios y técnicas de cultivo utilizadas (4).

Las cifras de colonización varían según la región geográfica y por factores socioeconómicos. En ciertos países desarrollados se encuentra entre 5 y 35%, mientras que para naciones en desarrollo oscila entre 4 y 20%. En Latinoamérica, Argentina, Brasil, México y Venezuela se han descrito prevalencias de 10%, 18,4%, 10,3% y 32,7% respectivamente. En otros países en desarrollo se han visto valores menores, por ejemplo India (5,8%), Libia (5%) y Arabia Saudita (13,9%) en tanto en regiones como Nigeria (19,5%), Costa de Marfil (19,3%) y Gambia (22%) han tenido prevalencias más altas (5).

El perfil de resistencia a los macrolidos, lincosaminas y estreptograminas (MLS), se determina mediante el método de difusión de doble disco (D-test) utilizando Eritromicina y Clindamicina, la interpretación de los diferentes tipos es la siguiente:

- a. Fenotipo MLS inducible: eritromicina resistente y clindamicina sensible (con achatamiento del halo de clindamicina).
- b. Fenotipo MLS constitutivo: eritromicina y clindamicina resistentes.
- c. Fenotipo M (Eflujo): eritromicina resistente y clindamicina sensible (sin achatamiento del halo).

Los porcentajes de resistencia a clindamicina y eritromicina varían significativamente de acuerdo al país en el que se realizó los estudios.

Así en Taiwan, Hsueh y col (6). Comunicaron un incremento de la resistencia a eritromicina y clindamicina del 19 y 18% en 1.994 a 46 y 37% en 1.997, respectivamente.

Mientras que Betriu y col (7), estudiando 1.462 aislamientos de SGB recuperados en el Hospital Clínico San Carlos de Madrid, España entre 1.992 a 2.001, comunicaron que el porcentaje de resistencia a eritromicina del año 1.992 (14%) sufrió un declive significativo hasta el año 1.996 (5,6%) el que incremento notoriamente en 1.998 (14,5%) y en 1.999 (18%).

En Argentina, la resistencia a eritromicina es de 6% y a clindamicina 4,5%, de acuerdo a un estudio multicentrico (2).

Como consecuencia del incremento de resistencias de SGB a eritromicina y clindamicina, se recomienda ahora determinar la sensibilidad de la cepa aislada a estos antibióticos y se definen nuevos regímenes alternativos de profilaxis. En pacientes inmunocomprometidos una alternativa potencialmente útil es el uso de quinolonas.

JUSTIFICACIÓN:

Estreptococo Beta-Hemolítico del Grupo B causa una de las infecciones más graves que puede presentar un paciente en sus primeras horas de vida, la importancia de la búsqueda en las gestantes está dada por ser la colonización materna el factor más importante de riesgo para la enfermedad neonatal, es importante identificar a las portadoras de SGB y ofrecer profilaxis antibiótica antes del parto; en Paraguay no se indica la búsqueda de esta bacteria en forma rutinaria y no hay trabajos que indiquen la prevalencia de SGB en embarazadas en nuestro medio. No habiendo antecedentes en el País y la Región de estudios de colonización y de resistencia a los antibióticos (Macrólidos, Lincosaminas y Quinolonas) de SGB en las gestantes, y por el riesgo de infecciones severas en recién nacido, justifica la realización de este trabajo.

HIPÓTESIS:

La hipótesis planteada en este trabajo de investigación es que “El porcentaje de gestantes colonizadas por *Streptococo* beta hemolítico es bajo, así como también el perfil de resistencia”.

OBJETIVOS:

Objetivo General:

Determinar el porcentaje de gestantes colonizadas por SGB y el perfil de resistencia a los Macrólidos, Lincosamidas y Quinolonas en los SGB aislados.

Objetivos Específicos:

Determina el rango de edad de las gestantes donde se presentó el aislamiento de SGB con mayor frecuencia.

Caracterizar el fenotipo de los mecanismos de resistencia a Macrólidos, Lincosaminas y Quinolonas.

MATERIALES Y METODOS:

Población: mujeres gestantes de 35 a 37 semanas de embarazo que acuden al servicio de Ginecología del Hospital Regional de Encarnación.

Población Enfocada: Mujeres gestantes de 35 a 37 semanas de embarazo.

Población Accesible: Mujeres gestantes de 35 a 37 semanas de embarazo que concurren al servicio de ginecología del Hospital Regional de Encarnación.

Tipo de Estudio: Descriptivo, Prospectivo de corte transversal.

Periodo de Estudio: Abril a Setiembre del 2013

Tipo de Muestreo: No probabilístico de casos consecutivos.

Criterios de Inclusión: Mujeres con 35 a 37 semanas de gestación, entre 15 a 50 años de edad que accedieron a participar del estudio.

Criterios de Exclusión: Mujeres embarazadas con edad gestacional inferior a lo establecido en los objetivos; y las que no consintieron acceder al estudio.

Toma de Muestra:

Se realizó hisopado del introito vaginal sin colocación del espejito, e hisopado ano-rectal, ambos materiales provenientes de las mujeres con 35 a 37 semanas de gestación entre 15 y 50 años de edad; los materiales fueron transportados en medio Stuart.

Procesamiento de la muestra:

Los hisopos se sembraron en 1mL de caldo ToddHewitt (OXOID - Inglaterra) suplementados con dos discos de 30 µg de ácido nalidíxico y un disco de 10 µg de colistin (Britania - Argentina) e incubados 24 hs a 35° C.

Luego de la incubación en el caldo ToddHewitt se procedió a la siembra en agar sangre de oveja al 5%, el cual se incubó 24 Hs a 35° C en atmósfera de CO₂ (método de lata con vela).

Para la identificación de las colonias se utilizaron la coloración de Gram, catalasa, bilis esculina, PYR, prueba de susceptibilidad a 10 UI de Bacitracina (BD BBL Estados Unidos) y TrimetoprimSulfametoxazol (TMS).

Coloración de Gram: se realizó un frotis de las colonias y se colorea con Violeta de Cristal, Lugol, Decolorante, Safranina. Una vez seco se observó al microscopio óptico en 100X y con aceite de inmersión.

Catalasa: en un portaobjetos se colocó una colonia pura de 24 horas de crecimiento, luego se agregó una gota de H₂O₂ al 30% con un gotero. La prueba es positiva si se forman burbujas; caso contrario negativa.

Siembra en Bilis Esculina (BE): se sembró en medio bilis esculina unas colonias puras de 24 horas de incubación y se colocó en la estufa de cultivo por 24 horas. BE positivo el medio cambia de color a negro. BE negativo el medio permanece sin cambios.

Prueba de Pyr (Britania - Argentina): A partir de un cultivo puro, se realizó una suspensión densa de 50 mL de solución fisiológica estéril y se le agregó un disco de PYR-A. Se incubó 30 minutos de 35 a 37°C. Se agregó una gota del revelador, se dejó a temperatura ambiente hasta 5 minutos y se procedió a la lectura. Pyr positivo disco de color rosa; Pyr negativo disco sin cambio de color.

Estreptococos beta hemolíticos: son cocos Gram positivos productores de beta hemólisis; catalasa negativos, BE negativo; Pyr negativo.

Una vez identificadas las colonias se procedió a realizar las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos estudiados por el método estandarizado de Kirby-Bauer de acuerdo con las recomendaciones, criterios y puntos de corte establecidos por Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Para ello se utilizó, inóculo equivalente a 0,5 de la escala de McFarland de microorganismos de 24 horas de crecimiento (35°C, atmósfera CO₂), en el agar Muller-Hinton (Diagnostic LIOFILCHEM – Italy) suplementado con sangre de oveja al 5%, discos de antibióticos 15 µg de Eritromicina (Bio-Rad Francia), 2 µg de Clindamicina (Bio-Rad Francia), 5 µg de Ciprofloxacina (Bio-Rad Francia), 30 µg de Ácido Nalidíxico (OXOID Inglaterra), 5 µg de Levofloxacina (Bio-Rad Francia).

Los discos de antibióticos se colocaron a una distancia de 20mm; las placas se incubaron durante 24 horas a 35°C en atmósfera CO₂.

La caracterización fenotípica del perfil de resistencia se describió anteriormente.

Análisis de datos: los resultados se expresaron en porcentajes y fueron analizados en el programa Excel.

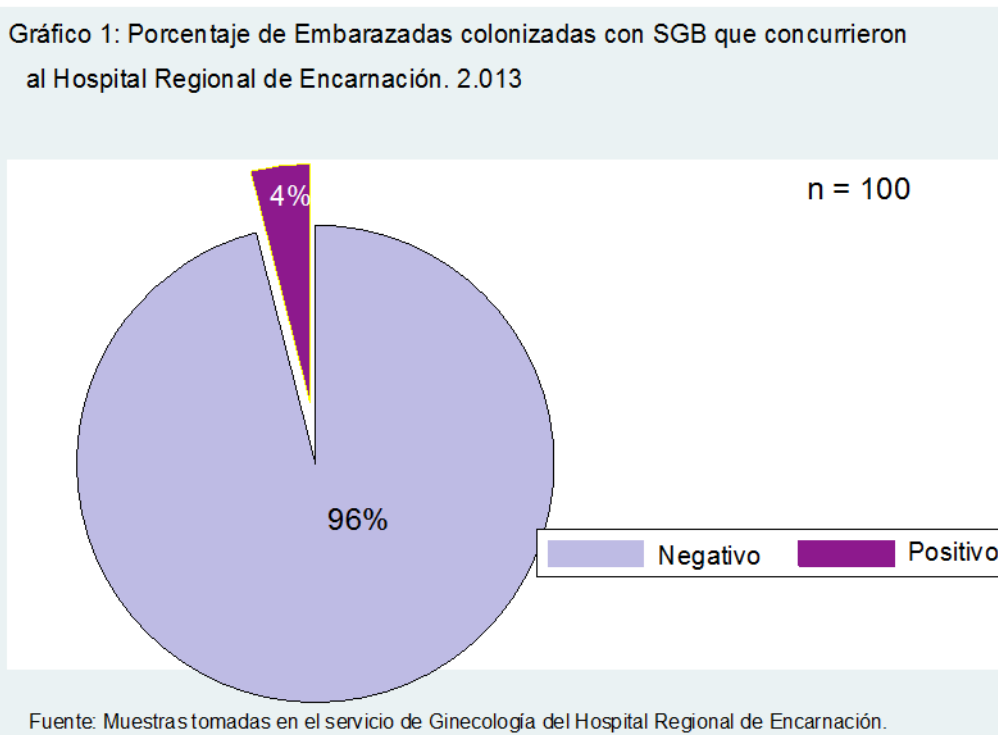
Consideraciones Éticas:

- Para el estudio, se ha solicitado por escrito la autorización de la Dirección Médica y de la Jefatura de Servicio de Ginecología del Hospital Regional de Encarnación, para tener acceso a la toma de muestras a las embarazadas.
- Se ha tenido en cuenta el consentimiento de las embarazadas para realizar la toma de las muestras.

- Se ha preservado la confidencialidad y privacidad de las pacientes, evitándose la divulgación de las identidades.

RESULTADOS:

De acuerdo al objetivo general de porcentaje de colonización y de resistencia a los Macrólidos, Lincosaminas y Quinolonas en los aislamientos de SGB se encontraron los siguientes resultados:



De las 4 cepas de SGB aislados, 3 cepas fueron resistentes a Macrólidos y Lincosamidas y una cepa fue sensible a estos antibióticos.

En cuanto a las Quinolonas; las 4 cepas son resistentes al ácido Nalidíxico, habiendo encontrado 3 cepas sensibles a Ciprofloxacina y Levofloxacina (sensibilidad disminuida a dichas Quinolonas); y una es resistente a Ciprofloxacina y Levofloxacina.

De acuerdo al primer objetivo específico:

Tabla 1: Rango de edad de las gestantes donde se presentó el aislamiento de SGB

Rango de Edad	Frecuencia Absoluta
14 a 19	1
20 a 24	1
25 a 29	1
30 a 34	1
35 a 39	--

De acuerdo al segundo objetivo específico:

Tabla 2: Resistencia a eritromicina y clindamicina de 4 cepas de SGB aislados:

Antibiótico:	Cepas Sensibles	Cepas Resistentes
Eritromicina	1	3
Clindamicina	1	3

Tabla 3: Distribución de los Fenotipos de Resistencia a Macrólidos y Lincosamidas

Fenotipos de Cepas de SGB	Frecuencia Absoluta
c MLSB	3
i MLSB	-
Fenotipo M	-
Total:	3

Tabla 4: Perfil de susceptibilidad a Quinolonas

Antibiótico:	Cepas Sensibles	Cepas Resistentes
AcidoNalidíxico	-	4
Ciprofloxacina	3	1
Levofloxacina	3	1

DISCUSIÓN:

En el presente trabajo se encontró un 4% de embarazadas colonizadas con SGB; en cuanto al rango de edad de las gestantes en las cuales se encontró este microorganismo hubo uniformidad en el aislamiento, se aisló en prácticamente todos los rangos etarios.

Se obtuvo un alto porcentaje de resistencia a macrólidos y lincosamidas como los encontrados en un estudio realizado en Taiwan, Hsueh y col (6). Comunicaron un incremento de la resistencia a eritromicina y clindamicina del 19 y 18% en 1.994 a 46 y 37% en 1.997, respectivamente (6); mientras que comparado con el trabajo hecho en la Argentina donde el porcentaje de resistencia a macrólidos, lincosamidas encontrado fue bajo (2).

El porcentaje de colonización materna por SGB encontrado fue relativamente bajo comparados con otras poblaciones del mundo como países desarrollados en los que se encuentra entre 5 y 35%, mientras que para naciones en desarrollo oscila entre 4 y 20%. En comparación con los países en desarrollo el aislamiento fue parecido al de India (5,8%) y Libia (5%); mientras que en Latinoamérica; Argentina, Brasil, México y Venezuela se han descrito prevalencias de 10%, 18,4%, 10,3% y 32,7% respectivamente, en comparación con estos el porcentaje de aislamiento de este trabajo fue bajo(5).

El fenotipo de resistencia encontrado en Macrólidos, Lincosamidas fue exclusivamente el MLSB constitutivo y en Quinolonas se encontró una sensibilidad disminuida a estas.

El presente estudio asienta las bases para futuras investigaciones sobre muestras más ampliadas en cantidad; ya que hasta la actualidad en nuestro País y la Región no se ha evidenciado publicaciones anteriores de este estudio.

CONCLUSION:

Acorde a los hallazgos de esta investigación el porcentaje de gestantes colonizadas fue bajo; y el microorganismo fue aislado en todos los rangos etarios; mientras que el perfil de resistencia antibiótica de las cepas aisladas fue discordante con lo planteado anteriormente en la hipótesis.

Esto obliga a realizar el antibiograma a todas las cepas aisladas ya que el esquema de tratamiento a utilizarse en pacientes alérgicas a la penicilina son los macrólidos y lincosamidas.

BIBLIOGRAFIA:

- (1) J. Sad Larcher, F. Capellino, R. De Giuso, C. Travella. Colonización por estreptococo beta hemolítico del grupo b durante el embarazo y prevención de enfermedad neonatal. Medicina (B. Aires) vol. 65 N 3. Mayo-Junio 2005.
 - (2) S. Di Bartolomeo, M. Gentile, G. Priore, S. Valle, A. Di Bella. Revista Argentina de Microbiología (2.005). Streptococcusagalactiae en embarazadas. Prevalencia en el Hospital Nacional Alejandro de Posadas.
 - (3) Baker C.J., Goroff D.K., Alpert S., et al. Vaginal colonization with group B Streptococcus. A study in college women. J Infect Dis 1.997; 135:392-7
 - (4) De Cueto M., Sánchez M.J., Sampedro A., Miranda J.A., Herruzo A.J., Rosa-Fraile M. Timing of intrapartum ampicillin and prevention of vertical transmission of group B Streptococcus. ObstetGynecol 1.998; 91:112-114.
 - (5) Suara R., Adegbola R., Baker C., Secka O., et al. Carriage of group B Streptococci in Pregnant Gambian Mothers and their Infants. J Infect Diseases 1.994; 170: 1.316-1.319.
 - (6) Hsueh P., Teng L., Lee L., et al. High incidence of erythromycin resistance among clinical isolates of Streptococcus agalactiae in Taiwan. AntimicrobAgentsChemother. 45: 3.205-3.208. 2001.
 - (7) Betruí C., Culebras E., Gómez M., et al. Erythromycin and clindamycin resistance and telitromycin susceptibility in Streptococcus agalactiae. AntimicrobChemother 47(3):1.112-1.114. 2.003
- J. Tamariz Ortiz, M. Obregon Calero, J. C. Jara Aguirre, J. Diaz Herrera. Rev. Med. Hered 15, 2004. Colonización vaginal y anorectal por Streptococcusagalactiae en gestantes de los Hospitales Nacionales Cayetano Heredia y Arzobispo Loayza.

M. de Cueto, J. de la Rosa. Prevención de la Infección Neonatal por Streptococcusagalactiae. Disponible en www.doyma.es

M. Cruz, A. Doren, J. Tapia, F. Abarzua. Rev. Chil. Pediatr 2.008. Sepsis Neonatal por Streptococcus Grupo B.

A. Mollerach, E. Mendez, R. Massa, J. Di Conza. Streptococcusagalactiae aislado en Santa Fe, Argentina, estudio de sensibilidad a antibióticos de uso clínico y mecanismos de resistencia a eritromicina y clindamicina. Disponible en [http db.doyma.es cgi-bin wdbcgi.exe](http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe)
[doymamrevistafulltex?pidet=13096755](http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe)

ANEXOS:



CONSENTIMIENTO INFORMADO

FACULTAD DE MEDICINA - UNI	Hospital Regional de Encarnación	
FECHA:		
DIA:	MES:	AÑO: 2.013

Yo _____ con
C.I.N.º _____ autorizo para la realización del
procedimiento del estudio para la detección de SGB en embarazadas, dicho estudio se
realizará en las instalaciones del laboratorio de la Facultad de Medicina; pudiendo estos
utilizar los datos requeridos para dicha investigación.

FIRMA DEL PACIENTE: _____

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

C.I.N.º o HUELLA: _____

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL PACIENTE: _____

NOMBRE DEL RESPONSABLE DEL PACIENTE: _____

C. I. N.º o HUELLA: _____

RELACIÓN CON EL PACIENTE: _____

