

INFECCIONES POR STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (ESTREPTOCOCO GRUPO B):

IMPORTANCIA DEL ESTUDIO BACTERIOLÓGICO EN
LA PREVENCIÓN DE INFECCIONES PERINATALES.



INFECCIONES POR STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (ESTREPTOCOCO GRUPO B):

IMPORTANCIA DEL ESTUDIO BACTERIOLÓGICO EN LA PREVENCIÓN DE INFECCIONES PERINATALES.

En la clasificación clásica de Lancefield, el estreptococo beta hemolítico de grupo B (EGB) corresponde casi universalmente a la especie *Streptococcus agalactiae*; es costumbre considerarlos sinónimos, aunque dentro del género *Streptococcus* hay otras dos especies que también poseen el carbohidrato de grupo B, pero estas no tienen mayor relevancia en la patología humana. Para los fines de este resumen, consideraremos que al referirnos a EGB estamos hablando de *S. agalactiae*.

CONSIDERACIONES CLÍNICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS

Esta bacteria es un habitante normal del tracto gastrointestinal y genital, particularmente en la parte inferior de la vagina y en el canal rectal. La colonización vaginal es mayor en mujeres sexualmente activas durante la primera fase del ciclo menstrual y con el uso de dispositivos intrauterinos, el embarazo no parece influir sobre el estado de portadora, ya que la tasa es similar en mujeres gestantes y no gestantes (1). Ocasionalmente estos organismos atraviesan los límites de su hábitat normal y ocasionan infecciones invasivas incluyendo bacteriemia y sepsis, infecciones urinarias, infecciones osteoarticulares, infecciones de heridas y úlceras, neumonía y meningitis; por otro lado, su presencia en el canal del parto representa un riesgo para el feto y el recién nacido, que pueden desarrollar infecciones de diversa naturaleza en el período perinatal, particularmente septicemia, neumonía y meningitis.

La importancia de las infecciones en adultos no es despreciable, las personas más susceptibles son gente mayor, particularmente si tienen otras enfermedades asociadas como diabetes mellitus, enfermedad cardiovascular, enfermedad crónica del hígado y obesidad, y las mujeres embarazadas. Aproximadamente 1% de las infecciones urinarias en adultos son causadas por EGB, pero esta incidencia es mayor en mujeres embarazadas y estas pacientes padecen con más frecuencia de parto prematuro, ruptura prematura de membranas y aborto.

Aunque la descripción de infección del recién nacido por EGB data de 1938 (2), dicha patología viene siendo motivo de mayor interés en los campos de la Ginecología y la Pediatría desde finales de la década de 1960, cuando en los Estados Unidos se reconoció como una causa importante de morbilidad y mortalidad perinatal. Existen desde entonces numerosas publicaciones sobre el tema, que han evolucionado hasta la creación de recomendaciones para establecer métodos de estudio estandarizados y prevención del problema clínico. Las más recientes recomendaciones han sido publicadas recientemente (3).

La incidencia nacional de la infección por EGB es desconocida, en parte porque no se hacen los estudios bacteriológicos adecuados y en cierta medida por la falta de normas de prevención en la atención de mujeres embarazadas. La infección del feto o del recién nacido puede ocurrir por vía ascendente cuando ha habido ruptura prematura de membranas, aunque ocasionalmente la infección intra-útero puede ocurrir con membranas intactas.

El parto prolongado, la infección materna (amnionitis) y la prematuridad favorecen la colonización del producto por EGB (figura 1).

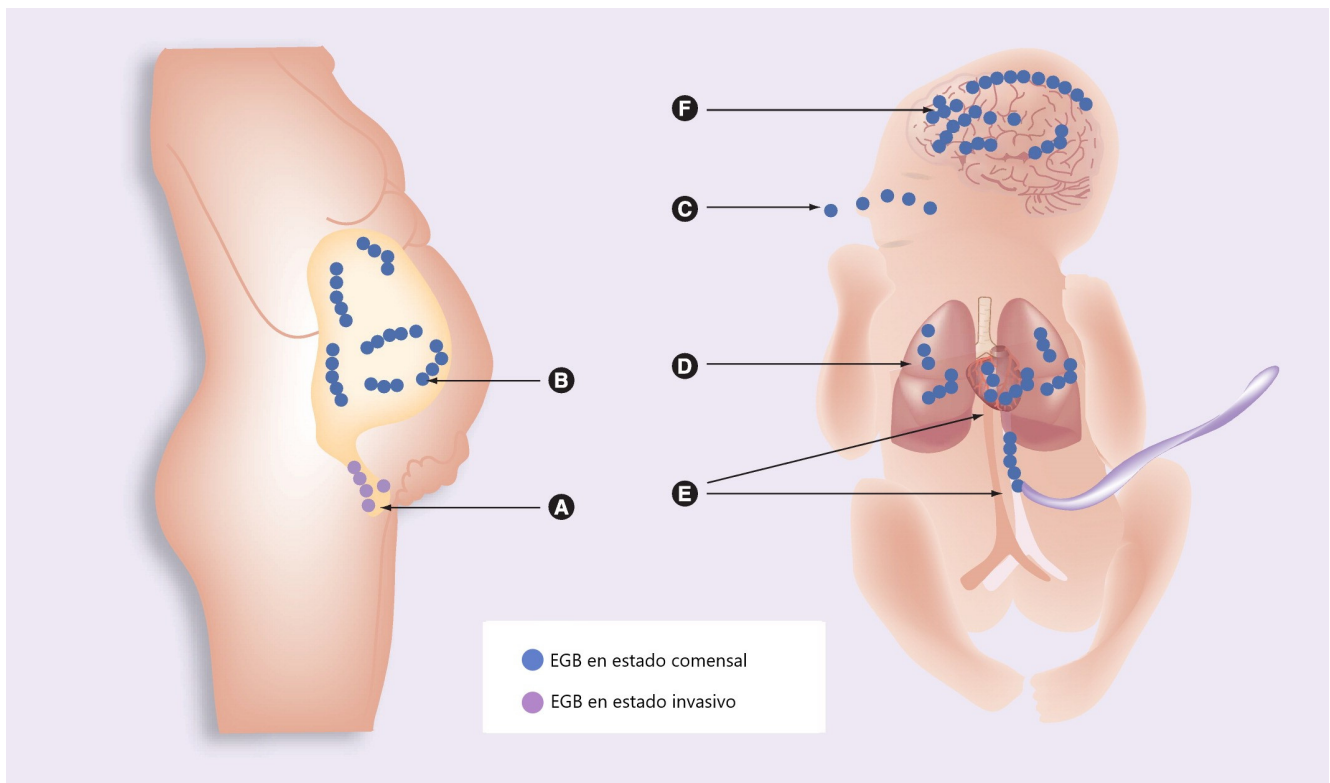


Figura 1. (A) Los EGB residen como comensales en los tractos genital y gastrointestinal inferior de las mujeres. (B) El EGB puede infiltrar el compartimento intrauterino en mujeres embarazadas que son portadoras asintomáticas. (C) Aspirado de EGB del recién nacido en el útero o durante el parto. (D) EGB invade el pulmón neonatal causando neumonía. (E) Desde el pulmón, el EGB accede al torrente sanguíneo del neonato, lo que provoca sepsis e invade múltiples órganos neonatales, incluido el corazón (F) El EGB penetra la barrera hematoencefálica y provoca meningitis.

Clínicamente la infección neonatal ocurre en dos formas: 1. La forma de comienzo precoz, que se presenta desde unas horas hasta 7 días después del parto, como un cuadro de sepsis o neumonía, muy similar al cuadro de distrés respiratorio idiopático y se asocia con mortalidad superior al 50%. 2. La forma de inicio tardío que se presenta desde los siete a diez días hasta ocho a diez semanas después del nacimiento, usualmente en forma de meningitis y asociada a una mortalidad inferior al 25%, pero con frecuentes secuelas neurológicas. Por otro lado, la infección por EGB en el recién nacido puede pasar desapercibida, pues los síntomas de fiebre, dificultad para alimentarse, irritabilidad o letargia, dificultad para respirar o cianosis, pueden hacer pensar en otra patología. La madre usualmente es asintomática.

Debido al reconocimiento del problema, ya para fines del s XX se recomendaba el uso de antibióticos como profilaxis intra partum y pronto surgió la recomendación de hacer un tamizaje bacteriológico universal entre las semanas 35 y 37 de gestación para optimizar la selección de madres que iban a recibir el tratamiento. Los estudios llevados a cabo demostraron la superioridad del cultivo bacteriológico sobre el método de selección basado en los riesgos de la paciente. Actualmente se recomienda efectuar el cultivo entre las 36 y 37 semanas. Los cultivos predicen el status de colonización en forma más exacta si las muestras se obtienen dentro de las cinco semanas antes del parto. Cuando se excede este tiempo, disminuye el valor predictivo del examen; por ejemplo: si una muestra ha sido obtenida dentro del tiempo recomendado, según la estimación de la fecha probable del parto, pero se prolonga la fecha del mismo más allá de las 40 semanas.

CULTIVOS

Desde hace muchos años se han venido proponiendo diversos métodos bacteriológicos para el aislamiento e identificación de *S. agalactiae*. Actualmente la selección del método que se va a usar en cada laboratorio depende de la capacidad económica y técnica de la institución y del grado de sensibilidad que se quiere dar al examen. Recientemente han sido introducidos a la práctica los métodos de amplificación de ácidos nucleicos, pero su uso también depende del grado de desarrollo de cada laboratorio.

Para la obtención de la muestra en mujeres embarazadas se recomienda el uso de un solo hisopo (figura 2), el cual se introduce primero en la parte inferior de la vagina cerca del introito vaginal, sin usar espéculo y en seguida en el recto pasando el esfínter anal. No son aceptables las muestras de cérvix, perineales o perianales. El hisopo se coloca inmediatamente en un tubo con un **medio de transporte** no-nutritivo, como Amies y se lleva al laboratorio antes de que transcurran 24 horas. Si se anticipa un atraso, el medio de transporte debe refrigerarse a 4-8°C. La viabilidad de EGB disminuye si se deja más tiempo y esto puede dar lugar a resultados falsos negativos del examen.



Figura 2. Se recomienda usar hisopos en borra ("flocked swabs"), que comercialmente son preparados aplicando fibras de diferente longitud a una superficie adhesiva para mejorar la colección de organismos y células de una muestra (por ejemplo: E swab de Copan Diagnostics o Hydra Flock y Pur Flock de Puritan Medical Products), a diferencia de los hisopos normales de fibras de algodón, Dacron o Rayon, que retienen parte de la muestra.

Una vez que el laboratorio recibe el tubo con la muestra, ésta se siembra en un **medio de enriquecimiento**, que también es un medio líquido (caldo), en una proporción 1:10 a 1:20, es decir una parte del medio de transporte en 9 a 19 partes de medio de enriquecimiento. Este procedimiento es obligatorio, incluso si se van a usar métodos de amplificación de ácidos nucleicos, de lo contrario la tasa de falsos negativos es de 6 a 22%. Una vez sembrado el caldo de enriquecimiento, se incuba 18 a 24 horas a 35-37°C en una incubadora con ambiente 5% CO₂.

Existen diversos medios de enriquecimiento, los cuales contienen componentes que inhiben en gran medida la presencia de otras bacterias que podrían ocultar el crecimiento de EGB. Algunos de estos medios tienen como base el medio de Todd Hewitt. La adición de sangre desfibrinada de ovino aumenta la detección de EGB (5), pero ordinariamente no es necesario usarla.

Los caldos selectivos incluyen componentes que inhiben el crecimiento de organismos entéricos y algunas bacterias Gram positivas como estafilococo.

Cuando se usa caldo no selectivo, estos organismos pueden sobrecrecer a EGB y por lo tanto dificultar su detección. Los caldos de enriquecimiento selectivo aceptables son: Caldo Todd-Hewitt con gentamicina y ácido nalidíxico (conocido como Caldo Trans-Vag), caldo Todd-Hewitt con colistina y ácido nalidíxico (conocido como caldo Lim).

Algunos investigadores recomiendan, en base a su experiencia, la siembra directa del medio de agar selectivo/diferencial de Granada (figura 3) para el aislamiento e identificación de EGB (6). Los platos deben ser incubados anaeróbicamente. Este procedimiento difiere del método standard recomendado (3,4), sin embargo, es una alternativa si se siguen las recomendaciones propuestas en dicho trabajo.

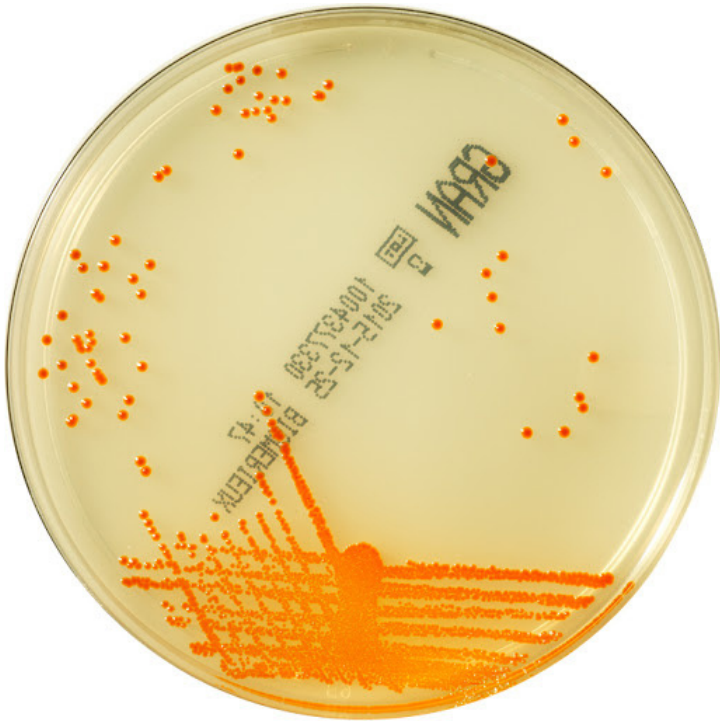


Figura 3. El medio Granada es un medio selectivo y diferencial diseñado y desarrollado en el hospital Virgen de las Nieves de Granada (España) en 1992 y mejorado en 2005. Permite la detección e identificación rápida y fácil de *Streptococcus agalactiae* (estreptococo del grupo B, EGB) en muestras clínicas.

El medio tiene una especificidad del 100% para EGB. Usa Granadina, un pigmento rojo poliénico para diferenciar los EGB de otras bacterias patógenas. Inhibe el crecimiento de la mayoría de las bacterias que no pertenecen a las especies de *S. agalactiae*, así como el de las levaduras. (biomerix. es)

Algunos medios de enriquecimiento contienen sustancias que en presencia de EGB generan color (cromogénicos), éstos, además de ayudar al crecimiento de la bacteria, permiten su detección presuntiva rápida (menos de 10 horas) por el cambio de color que presenta el medio, entre estos se mencionan el "carrot broth", el medio bifásico de Granada y otros. Estos caldos cromogénicos son muy específicos para EGB y sensibles para las cepas beta hemolíticas, pero no detectan las cepas no-hemolíticas de la bacteria que representan un 4%, por eso todos los caldos de enriquecimiento deben sub cultivarse en medios de agar.

Después de incubar el caldo de enriquecimiento, se hace una resiembra en un medio de agar apropiado, que puede ser un medio general, por ejemplo: TSA con 5% sangre de ovino, Columbia Agar con 5% sangre de ovino o Columbia Agar con colistin y ácido nalidíxico (CNA); un medio selectivo, o uno de los medios diferenciales de agar cromogénicos, como Brilliance GBS, ChromID Strep B, Strep B Select y medio de Granada(7). Preferentemente se deben usar medios selectivos. Los medios de agar se incuban 24 a 48 horas y se examinan para buscar colonias sospechosas de EGB (figura 4), las cuales, una vez seleccionadas, deben ser identificadas.

Para la identificación existen varias alternativas, por ejemplo: 1. Demostración de la reacción del factor de Christie, Atkins y Munch-Peterson (CAMP), 2. CAMP spot test, 3. Aglutinación de partículas de latex para demostrar el carbohidrato B de Lancefield, 4. Hidrólisis de Hipurato de Sodio, 5. Inmunofluorescencia, 6. Coaglutinación, 7. Inmunocromatografía, 8. MaldiTof, 9. Métodos moleculares de amplificación de ácido nucleico. Todos ellos tienen ventajas y desventajas, es decisión del laboratorio usar el más conveniente de acuerdo con sus posibilidades. De acuerdo con las recomendaciones vigentes (3,4), todas las cepas aisladas en agar, incluyendo las que crecen en medios cromogénicos deben ser identificadas, el desarrollo de colonias con un color característico en uno de estos medios no es garantía absoluta de que se trata de EGB, en términos generales los resultados del uso de diferentes medios son comparables, la ventaja de algunos de ellos es apenas modesta.

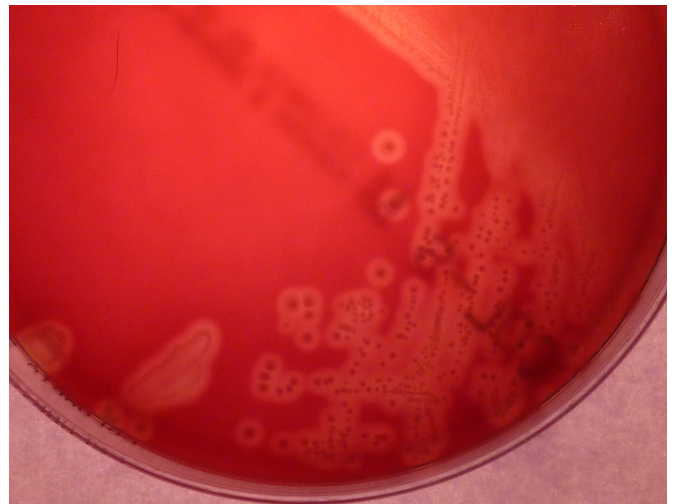


Figura 4. Colonias β -hemolíticas de *Streptococcus agalactiae* en agar sangre después de 18 h de incubación a 36°C

Muy pocas veces se necesita efectuar antibiograma de la cepa ya que en la mayoría de los casos las cepas de EGB son sensibles a penicilina y el tratamiento profiláctico se hace con cefalosporinas de primera generación, incluyendo cefazolina. Si hay historia de alergia severa a penicilina, una alternativa es usar clindamicina, pero recientemente se ha notado un incremento del número de cepas resistentes a este antibiótico, de allí la necesidad de hacer el estudio de sensibilidad. El método más exacto para efectuar este examen es la técnica de microdilución.

REFERENCIAS

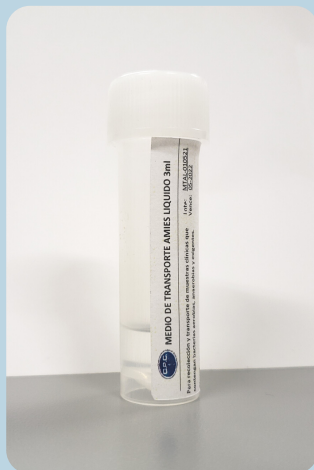
1. M. de la Rosa Fraile y M. de Cueto López, «Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica,» [En línea]. Available: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/agalac.pdf>. [Último acceso: Febrero 2021].
2. R. Fry, «Fatal Infections by Haemolytic Streptococcus Group B,» The Lancet 1: 199-201, 1938.
3. Committee on Obstetric Practice, «The American College of Obstetricians and Gynecologists,» 2019. [En línea]. Available: <https://www.acog.org/clinical/clinical-guidance/committee-opinion/articles/2020/02/prevention-of-group-b-streptococcal-early-onset-disease-in-newborns>.
4. American Society for Microbiology, Marzo 2020. Guidelines for the Detection and Identification of Group B Streptococcus. [En línea]. Available: <https://asm.org/Guideline/Guidelines-for-the-Detection-and-Identification-of>.
5. L. J. Fenton y M. H. Harper, «Evaluation of colistin and nalidixic acid in Todd-Hewitt broth for selective isolation of group B streptococci,» J Clin Microbiol 9: 167-169, 1979.
6. M. Rosa-Fraile, J. Rodríguez-Granger, M. Cueto-López, A. Sampedro, E. Biel Gaye, J. M. Haro y A. Andreu, «Use of Granada Medium To Detect Group B Streptococcal colonization in pregnant women,» J Clin Microbiol 37: 2674–2677, 1999.
7. Wikipedia, «Streptococcus agalactiae,» 2021. [En línea]. Available: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=39393069>.

SERVICIOS Y PRODUCTOS DE CPC

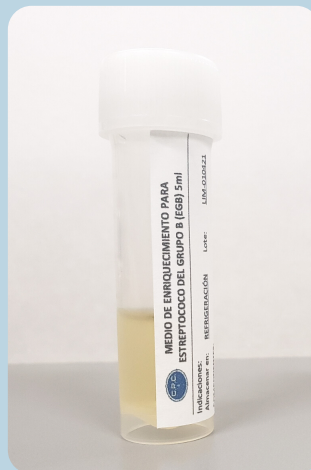


En atención a la necesidad de servicios y productos que ofrezcan soluciones a nuestros clientes, hemos diseñado la línea de medios y materiales para el procesamiento de muestras clínicas para la investigación de *Streptococcus agalactiae*.

Adicionalmente ofrecemos el servicio de cultivo en nuestro laboratorio donde podrá enviar sus muestras en el medio de transporte o el cultivo en placa con colonias sospechosas de EGB para su adecuado aislamiento y/o identificación.



Medio de transporte Amies líquido



Medio de enriquecimiento para Estreptococos del Grupo B



TSA con 5% sangre ovina

+ Información:

2232-5406 | 2239-0691 | 9437-9482 | promocionyventas@cpch.org | www.cpchn.org

Tabla 1. Resumen de las recomendaciones para la investigación de EGB en mujeres embarazadas

Tema	Recomendaciones	Aspectos fundamentales
Pruebas al paciente	Se recomienda realizar examen prenatal a todas las mujeres embarazadas de la semana de gestación 36 a 37, al menos que ya se hayan identificado factores de riesgo y por lo tanto recomendado profilaxis intraparto para EGB	Se recomienda profilaxis de acuerdo a las guías de ACOG 2019
Recolección, transporte y almacenamiento de la muestra	<ol style="list-style-type: none"> 1. Utilice un solo hisopo para obtener la muestra, primero desde la parte baja de la vagina y luego del recto sin utilizar espéculo. 2. Recolectar la muestra vagino-rectal utilizando hisopo flocado y colocarlo en medio de transporte a base de líquido, como el Medio de Transporte Amies. 3. Se deben enviar al laboratorio todas las muestras vagino-rectales en menos de 24 horas. 	Instrumento de recolección vagino-rectal aceptable: Hisopo flocado Medio de transporte aceptable: Medio Amies con o sin carbón E-swab (Copan)
Detección de EGB en el Laboratorio	<ol style="list-style-type: none"> 1. Transferir una porción del caldo de transporte a un caldo de enriquecimiento selectivo (proporción 1:10 – 1:20) e incubar antes de cultivo en agar o prueba molecular. 2. Los métodos utilizados de cultivo y aislamiento de EGB deben detectar ambas cepas, hemolíticas y no-hemolíticas. 3. Reportar EGB en cualquier cantidad resultante de cultivos de orina de mujeres embarazadas durante todos los trimestres. 	Caldos selectivos de enriquecimiento aceptables: Caldo Todd Hewitt con gentamicina y ácido nalidixico Caldo Lim Caldo Zanahoria, Caldo Bifásico de Granada Medios para cultivo de EGB aceptables: TSA con 5% sangre ovina Agar Columbia 5% sangre ovina Agar CNA 5% sangre ovina Brilliance GBS, ChromID StrepB, Chromagar, StrepBSelect
Identificación de Laboratorio	<ol style="list-style-type: none"> 1. Los métodos de identificación fenotípicos y proteómicos aceptables de las colonias sospechosas, incluyen la prueba de CAMP, aglutinación en látex y MALDI 2. Se aceptan las pruebas moleculares de los caldos de enriquecimiento, pero no es suficiente para todos los pacientes. 3. No es aceptable aglutinación en látex directamente de los caldos de enriquecimiento para detección de EGB 	Reacciones bioquímicas clave para la identificación presuntiva de EGB: Catalasa: negativo CAMP: positivo PYR: negativo Métodos moleculares de identificación de EGB aceptables: MALDI NAAT del caldo de enriquecimiento
Pruebas de sensibilidad	Realizar pruebas de sensibilidad antimicrobiana a todos los aislados de EGB de mujeres embarazadas con alergia a penicilina	Métodos de sensibilidad disponibles (pero no limitado a): Difusión en agar Micro-dilución en caldo Realizar pruebas de sensibilidad (en caso de alergia severa a penicilina): Eritromicina (realizar, pero no informar) Clindamicina (incluyendo resistencia inducida) Vancomicina Métodos aceptables de resistencia a clindamicina: Prueba Zona-D Micro-dilución en caldo Métodos automatizados

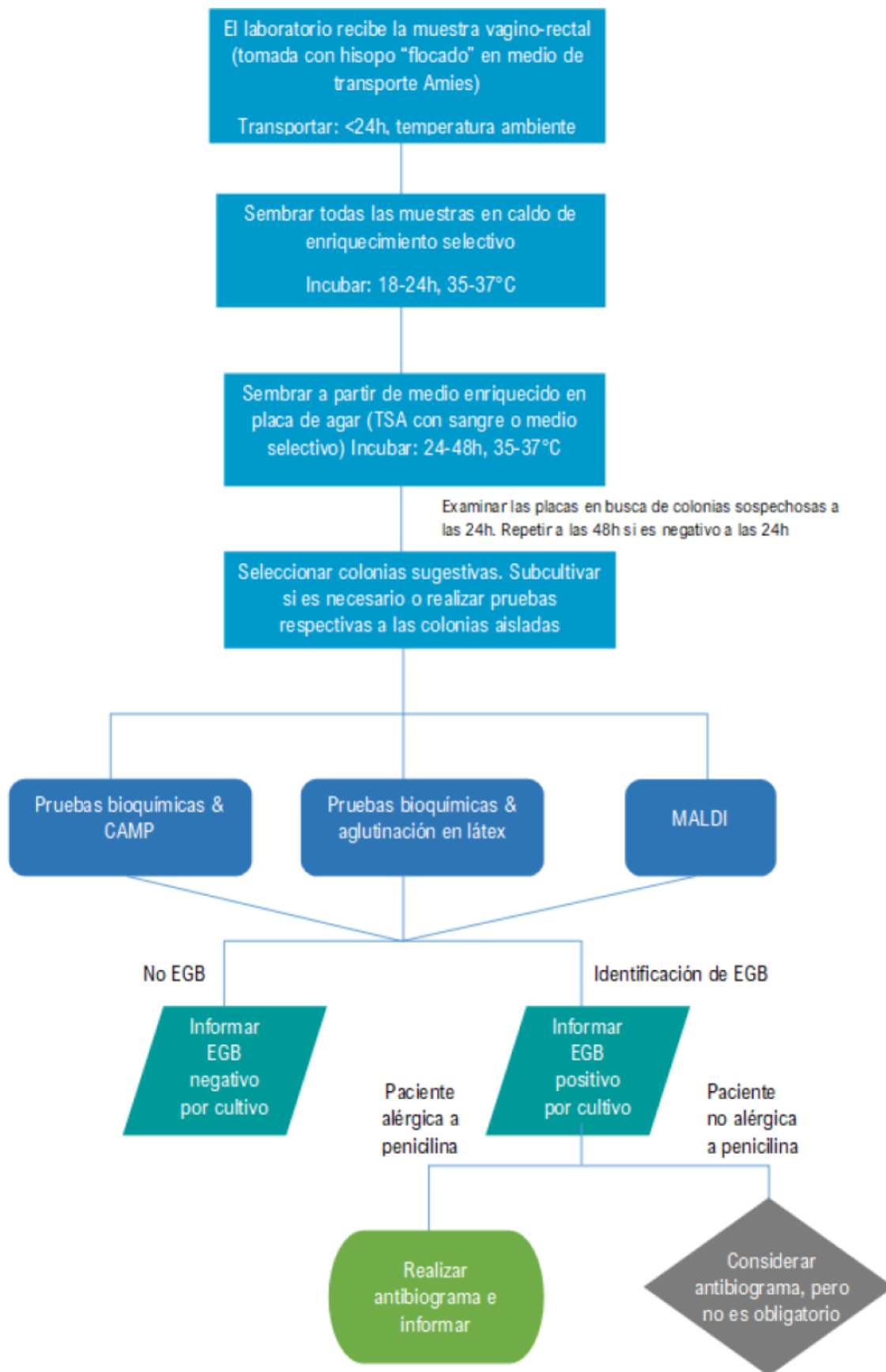


Figura 5. Flujo de trabajo en el laboratorio, para aislamiento de EGB en mujeres embarazadas (Modificado de "Guidelines for the Detection and Identification of Group B Streptococcus")