

Comparación de métodos para la recuperación y determinación de la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres gestantes de Medellín

Method Comparison for the Recovery from *Streptococcus agalactiae* and Its Prevalence Determination in Pregnant Women of Medellín

Clara M. Duque¹, Beatriz Gómez¹, Olga I. Uribe¹, Marcela Gutiérrez², Erika Ruiz², Gladis A. Leudo³, Sandra S. Montiel³

Resumen

Streptococcus agalactiae es un coco Gram positivo que se encuentra frecuentemente asociado a infecciones en neonatos, mujeres embarazadas y adultos inmunocomprometidos.

Objetivo: Comparar la sensibilidad de los métodos para la recuperación y la determinación de la prevalencia de *S. agalactiae* en un grupo de mujeres gestantes de Medellín.

Materiales y métodos: Se llevó a cabo un estudio descriptivo de corte. La población estudiada fueron 362 mujeres gestantes que consultaron en el periodo comprendido entre febrero y octubre de 2008, a las que se les tomaron muestras con hisopo del introito vaginal y de la región anal. Las muestras se

cultivaron simultáneamente en agar Nueva Granada y caldo Todd Hewitt con suplemento de antibióticos, a partir del cual se hizo un subcultivo en agar sangre de carnero al 5%.

Resultados: Al comparar el método de recuperación en agar Nueva Granada con el método de referencia en caldo Todd Hewitt, la sensibilidad del primero fue de 44% y el valor diagnóstico positivo de 58%; presentó una alta especificidad (98%) y un valor diagnóstico negativo de 99%. Se identificó *S. agalactiae* en 21 (5,8%) gestantes.

Conclusión: El cultivo en caldo Todd Hewitt es un método sensible para la recuperación de *S. agalactiae*. Por consiguiente, se recomienda continuar con esta metodología para la tamización de mujeres gestantes en nuestro medio. La prevalencia de 5,8% encontrada en este estudio concuerda con los reportes de la literatura mundial y, teniendo en cuenta que la tasa de transmisión vertical es, aproximada-

-
- 1 Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Medellín, Colombia
 - 2 Estudiantes de posgrado de la Especialización en Microbiología Clínica. Institucion Universitaria Colegio Mayor de Antioquia.
 - 3 Estudiantes pregrado en Bacteriología y Laboratorio Clínico. Institucion Universitaria Colegio Mayor de Antioquia Hospital General de Medellín "Luz Castro de Gutiérrez": recurso humano, planta física y pacientes
- Financiación: Institucion Universitaria Colegio Mayor de Antioquia

Correspondencia:

Beatriz Gómez. Calle 65 N° 77-126, Medellín, Colombia
Teléfono: (301) 501-6694 y (310) 845-3721
andresnatalia@une.net.co y beagomun1@hotmail.com

Recibido: 20/10/2009; Aceptado: 23/02/2010

mente, de 50% ⁽¹⁾, se demuestra la necesidad de implementar medidas de vigilancia epidemiológica en nuestro medio.

Palabras clave: *Streptococcus agalactiae*, agar Nueva Granada, caldo Todd Hewitt, colonización, mujeres gestantes.

Streptococcus agalactiae, is a Gram positive coccus that is frequently associated to infections in neonates, pregnant women, and immunocompromised adults.

Objective: Compare method sensitivity for recovery from *S. agalactiae* and to determine its prevalence in a group of pregnant women of the city of Medellín.

Materials and methods: Cross-sectional descriptive study. The population was pregnant women of Medellín who consulted from February to October, 2008; 362 pregnant women were included; the samples were taken from vagina introitus and anal area. The samples were simultaneously cultured in New Granada Agar and Todd Hewitt Broth supplemented with antibiotics, which was the base for the performance of a subculture in Ram Blood Agar at 5%.

Results: When comparing the New Granada Agar method of recovery with the Todd Hewitt Broth gold test, the sensitivity of the first was 44% and the positive predictive value was 58%; it presented 98% specificity and a negative predictive value of 99%. *S. agalactiae* was found in 21 (5.8%) pregnant women.

Conclusions: Todd Hewitt Broth is a sensitive method for the recovery from *S. agalactiae*; therefore, continuing with this methodology for the screening of pregnant women in our environment is recommended. The 5.8% prevalence found in this study is consistent with

the reports in world-wide literature. Considering that the rate of vertical transmission is approximately 50%, the need to implement epidemiological surveillance measures in our environment is evident.

Key words: *Streptococcus agalactiae*, New Granada Agar, Todd Hewitt Broth, colonization, pregnant women.

Introducción

Streptococcus agalactiae es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, catalasa y oxidasa negativo, que se encuentra frecuentemente asociado a infecciones en recién nacidos ^(1,2). Hace parte de la flora normal del intestino y a partir de allí coloniza la vía genital, principal vía de transmisión de la infección de la madre al recién nacido. La detección de *S. agalactiae* en mujeres embarazadas antes del parto es fundamental para prevenir la transmisión vertical ⁽¹⁾ y la infección del neonato.

En las mujeres embarazadas, esta bacteria puede dar origen a infección urinaria, corioamnionitis, endometritis y fiebre durante el parto. Las entidades clínicas más frecuentes de la infección por *S. agalactiae* en neonatos son: sepsis, neumonía y meningitis, las cuales pueden ser de comienzo precoz (en los primeros cinco días de vida) o de comienzo tardío (después de los primeros siete días y hasta los tres meses de edad).

Los factores maternos de riesgo asociados a la infección por *S. agalactiae* son: parto prematuro (menos de 37 semanas), ruptura prolongada de membranas (mayor de 18 horas) y fiebre durante el parto (mayor de 38°C) ⁽¹⁾.

La frecuencia de transmisión vertical por *S. agalactiae* es de 50%, aproximadamente. Las cifras de colonización varían según la

región geográfica y por factores socioeconómicos. En ciertos países desarrollados se encuentra entre 5% y 35% ⁽¹⁾, mientras que en las naciones en desarrollo oscila entre 4% y 20%. En países latinoamericanos, como Argentina, Brasil, México y Venezuela, se han descrito prevalencias de 10%, 18,4%, 10,3% y 32,7%, respectivamente ⁽²⁾. En Colombia existen reportes variables de colonización materna que van desde 0% hasta 25% ⁽³⁻⁷⁾.

Para la tamización se emplean medios selectivos, los cuales permiten una mayor tasa de recuperación de *S. agalactiae* en muestras clínicas. Fenton *et al.* ⁽⁸⁾, en 1979, utilizaron el medio Todd Hewitt, al que le adicionaron 8 µg/ml de sulfato de gentamicina y 15 µg/ml de ácido nalidíxico, como sustancias selectivas. Posteriormente, se han utilizado concentraciones menores de gentamicina debido a que las utilizadas anteriormente inhibían el crecimiento de algunas cepas de *S. agalactiae*. En 1992, De la Rosa *et al.* ⁽⁹⁾ diseñaron un nuevo medio de cultivo: el agar Nueva Granada, selectivo y diferencial, para la detección rápida de *S. agalactiae*. Éste contiene en su fórmula metotrexato (antagonista del folato) como factor activador de la producción de pigmento por *S. agalactiae*, glucosa y solución tampón ácido 3-morfolinopropanosulfónico (MOPS). En un estudio realizado por Bosch, se encontraron diferencias significativas al emplear el cultivo en agar Nueva Granada y en caldo selectivo. Se detectó crecimiento en 87,9% de los casos en agar Nueva Granada y solamente 12,1% en el caldo selectivo ⁽¹⁰⁾.

Por consiguiente, la elección del medio de cultivo es determinante en el porcentaje de recuperación de *S. agalactiae*, teniendo en cuenta que existen varios medios para su cultivo ⁽⁹⁻¹²⁾. El lograr una mayor sensibilidad

en las pruebas de tamización permite una mayor eficacia de las medidas de prevención, lo que promueve la seguridad de la madre y del neonato.

El objetivo de este estudio fue comparar la sensibilidad del agar Nueva Granada y del caldo Todd Hewitt con suplemento de con antibióticos, para la recuperación de *S. agalactiae*, y determinar su prevalencia en un grupo de mujeres gestantes de Medellín.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio descriptivo de corte. La población estudiada fueron mujeres gestantes de Medellín que consultaron en el periodo comprendido entre febrero y octubre de 2008. A partir de allí, se determinó una muestra calculada con un error del 5% y una confianza del 95%, para un total de 362 mujeres, las cuales fueron seleccionadas de forma aleatoria. De ellas, 296 ingresaron al servicio de hospitalización en los pisos 5 y 6 sur de ginecoobstetricia del Hospital General de Medellín y 66 consultaron en el programa de control prenatal de diferentes instituciones prestadoras de servicios (IPS) de la ciudad.

Se invitó a cada mujer gestante a formar parte del estudio y se obtuvo consentimiento informado para participar en el mismo. La recolección de la información se hizo mediante una encuesta con variables como edad, estrato socioeconómico y datos clínicos importantes, como semanas de gestación, antecedentes de infección urinaria por *S. agalactiae* durante el embarazo, estar inscrita en el programa de alto riesgo obstétrico y el factor de riesgo para la inclusión en éste.

Para realizar este estudio, se tuvo en cuenta como criterio de exclusión el uso de terapia antibiótica en el momento de la toma de la muestra.

A cada mujer se le tomaron muestras con hisopo del introito vaginal y de la región anal. Las muestras se transportaron desde los diferentes establecimientos de salud en medio Stuart hasta el laboratorio de investigación de la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia.

Posteriormente, se sembraron simultáneamente en medio de cultivo agar Nueva Granada, utilizando ambiente de anaerobiosis a una temperatura de 37°C por 72 horas, y en el caldo Todd Hewitt con adición de ácido nalidíxico y colistina, en atmósfera de CO₂ a una temperatura de 37°C por 24 horas. De allí, se subcultivó en agar sangre de carnero al 5%, el cual se incubó en CO₂ por 24 horas.

En el agar Nueva Granada se evaluó la aparición de un pigmento naranja característico de *S. agalactiae* en este medio; estas colonias, consideradas específicas para este microorganismo ⁽¹³⁾, se confirmaron con métodos bioquímicos y serológicos. En el agar sangre de carnero al 5% se observaron colonias con características de *S. agalactiae*, las cuales se identificaron con las siguientes pruebas: coloración de Gram, prueba de catalasa, CAMP y aglutinación con partículas de látex.

Posteriormente, se revisaron las historias clínicas de las mujeres embarazadas positivas para *S. agalactiae*, con el objetivo de verificar el inicio de la terapia antibiótica y, en caso de haberse producido el nacimiento, determinar si hubo transmisión al recién nacido o si no la hubo.

Plan de análisis

Se creó una base de datos en el programa Excel. Luego, se hizo el análisis de la información en los paquetes estadísticos SPSS, versión 15, y Epidat 6.0.

Inicialmente, se calcularon las frecuencias y los porcentajes para las variables cualitativas, y media y desviación estándar (DE), para las cuantitativas.

Para la comparación de los dos métodos, se determinó el índice kappa con su respectivo IC95%. Después, se calcularon la sensibilidad, la especificidad, el valor diagnóstico positivo y negativo para el agar Nueva Granada, tomando como método de referencia el cultivo en caldo Todd Hewitt ⁽¹⁴⁾. Se tomó como significancia estadística un valor de $p < 0,05$.

Resultados

Se estudiaron 362 mujeres gestantes con edad promedio de 28,5 años (rango, 14 a 43 años), de los estratos socioeconómicos 1, 2 y 3 de Medellín, pertenecientes al régimen subsidiado o contributivo. La edad de gestación al momento de la toma de la muestra, osciló entre 4 y 39 semanas, con un promedio de 21,5 semanas.

En 21 (5,8%) de 362 embarazadas se aisló *S. agalactiae*.

A evaluar los resultados en relación con las características epidemiológicas, se puede observar que la prevalencia por rango de edad no presentó diferencias significativas, con un valor de p de 0,94 (tabla 1).

Tabla 1. Prevalencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* por rango de edad

Rango de edad	Prevalencia de colonización por <i>S. agalactiae</i> (n) (%)
14-18	4/86 (4,65)
19-23	7/119 (5,88)
24-28	5/80 (6,25)
29-38	5/77 (6,4)
Total	21/362 (5,8); $p=0,94$

De las mujeres gestantes colonizadas por *S. agalactiae*, 20 (95,2%) pertenecían a los estratos 1 y 2. No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,407$) (tabla 2).

Tabla 2. Frecuencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* según estrato socioeconómico

Estrato socioeconómico	Frecuencia de colonización n (%)
Bajo (estrato 1 y 2)	20 (95,6)
Medio (estrato 3 y 4)	1 (4,8)
Total	21 (100); $p=0,407$

Al evaluar los datos clínicos relevantes en relación con los resultados, se obtuvo que de las pacientes positivas para *S. agalactiae* la mayoría se encontraban entre 22 y 27 semanas de gestación; en los grupos con edad de gestación de menos de 15 semanas, no se encontraron pacientes colonizadas por *S. agalactiae*. No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,656$) (tabla 3).

Tabla 3. Prevalencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* por edad de gestación

Semanas de gestación	Prevalencia de colonización por <i>S. agalactiae</i> n (%)
16-21	3/49 (6,1)
22-27	5/46 (10,8)
28-33	7/124 (5,6)
34-39	6/143 (4,1)
Total	21/362 (5,8); $p=0,656$

Se encontró que 12 (52,1%) de las mujeres gestantes colonizadas pertenecían al programa de alto riesgo obstétrico. Ninguna de las pacientes incluidas en el estudio presentó infección urinaria por *S. agalactiae* durante el embarazo.

En relación con los métodos utilizados, se encontró que 7 (33,3%) de los aislamientos se recuperaron por ambos métodos, 5 (23,8%) se recuperaron sólo en agar Nueva Granada, y 9 (42,8%) sólo en caldo Todd Hewitt (figura 1).

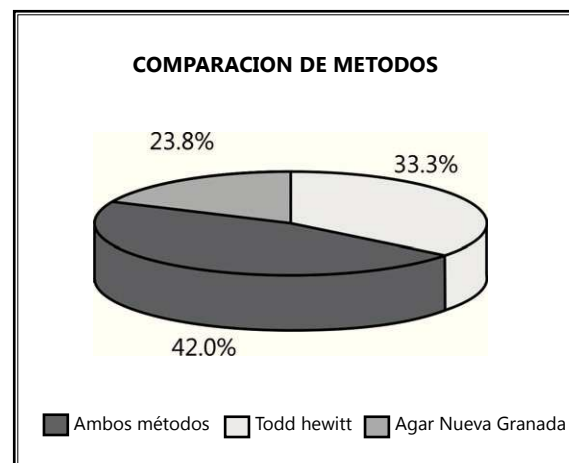


Figura 1. Porcentaje de recuperación por método

Al comparar el método de recuperación en agar Nueva Granada con el método de referencia de cultivo en caldo Todd Hewitt (15), puede afirmarse que la sensibilidad fue de 44% (IC95% 0,19-0,68), el valor diagnóstico positivo de 58% (IC95% 0,37-0,88), la especificidad de 99% (IC95% 0,97-1) y el valor diagnóstico negativo de 97% (IC95% 0,96-0,99) (tabla 4).

La concordancia de los métodos se determinó calculando el índice kappa, el cual fue de 0,48 (IC95% 0,2134-0,7472) con p igual a cero.

Tabla 4. Recuperación de *Streptococcus agalactiae* por ambos métodos

Caldo Todd Hewitt				
		+	-	Total
Agar Nueva Granada	+	7	5	12
	-	9	341	350
	Total	16	346	362

Al revisar las historias clínicas de las mujeres gestantes positivas para *S. agalactiae*, se observó que todas habían recibido tratamiento y no hubo transmisión de la infección a los recién nacidos hasta la fecha de la revisión.

Discusión

Durante los últimos años, *S. agalactiae* ha demostrado ser un agente etiológico importante en infecciones, principalmente, en neonatos y adultos sensibles en los países desarrollados ⁽²⁾.

En este estudio se encontró una prevalencia de 5,8% de colonización por *S. agalactiae* en mujeres gestantes. En estudios anteriores se han reportado diferentes prevalencias. En 1989 (3) y 1990, se realizaron dos estudios en el Hospital General de Medellín; en el primero se reportó una prevalencia de 1,5% y en el segundo se encontraron negativos todos los cultivos.

En 1999, Trujillo *et al.* ⁽⁴⁾ reprodujeron el trabajo en el Hospital General de Medellín y encontraron una prevalencia de 17%. En el 2002, Restrepo *et al.* reportaron una prevalencia de 8,6% en el Hospital Universitario San Vicente de Paúl ⁽⁷⁾.

En este estudio se pudo evidenciar que la colonización materna por *S. agalactiae* se presentó con mayor frecuencia entre las semanas de gestación 22 y 27. No se presentaron diferencias significativas en la prevalencia por rango de edad. En los estudios realizados en Estados Unidos ⁽¹²⁾, se reportó que las mujeres gestantes en edades entre los 14 y 20 años eran más propensas a la colonización por *S. agalactiae*.

La mayoría de las participantes en el estudio, 281 (77,6%), pertenecen a un nivel socioeconómico bajo (estratos 1 y 2).

Además, es de resaltar que los resultados varían de acuerdo con los métodos utilizados para la recuperación de *S. agalactiae*, por lo cual es importante utilizar el método más apropiado. La prevalencia encontrada en este estudio fue de 5,8% utilizando ambos métodos. Con el cultivo en caldo Todd Hewitt como único método, se encontró una prevalencia de 4,4% y, con el agar Nueva Granada como único método, una de 3,3%. Esto demuestra, al igual que en estudios anteriores, que el caldo Todd Hewitt con suplemento de antibióticos, es el método más sensible para recuperar *S. agalactiae* ⁽¹³⁾, contrario a lo informado por Bosch, quien encontró diferencias significativas al emplear cultivo en agar Nueva Granada y en caldo selectivo ⁽¹⁰⁾.

En este estudio se encontró que la sensibilidad del cultivo en agar Nueva Granada fue de 44%, considerada moderada, y una alta especificidad (99%). Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran la necesidad de profundizar en la epidemiología de la infección por esta bacteria en nuestro medio, y de establecer e implementar estrategias de prevención.

Con este estudio se demuestra que la prevalencia de colonización por *S. agalactiae* es de 5,8%, lo cual indica que se requiere contar con medidas de vigilancia epidemiológica y la adopción de estrategias de prevención, que permitan disminuir las tasas de infección materna y de transmisión al neonato.

Además, se pudo ratificar que el cultivo en caldo Todd Hewitt es el método más sensible para la recuperación de *S. agalactiae*, y es el medio de elección para el diagnóstico y el seguimiento de la infección por *S. agalactiae*.

Agradecimientos

Los autores expresamos nuestros más sentidos agradecimientos a Alberto Pérez, director del Departamento de Investigación del Hospital General de Medellín y su equipo humano, quienes nos apoyaron incondicionalmente para el éxito de este estudio.

Referencias

1. Tamariz JH, Obregón M, Jara JC, Díaz J, Jefferson Luz, Guerra H. Colonización vaginal y anorrectal por *Streptococcus agalactiae* en gestantes de los Hospitales Nacionales Cayetano Heredia y Arzobispo Loayza. Rev Med Hered. 2004;15:144-50.
2. Crespo MP, Vélez JD. Importancia clínica de *Streptococcus agalactiae* como causante de infección. Colombia Med. 1996;27:53-8.
3. Manotas RJ, Baquero D. Frecuencia de aislamiento de *Streptococcus agalactiae* en un grupo de embarazadas y sus productos. IATREIA. 1989;2:111-3.
4. Trujillo M, Ospina B, Fama M. Reevaluación del estado de colonización por *Streptococcus* del grupo B en madres e hijos al momento del parto. Rev Ces Medicina. 1999;13:44.
5. González CP, González JE. Prevalencia de estreptococo beta hemolítico en mujeres embarazadas de alto riesgo en el Hospital Simón Bolívar de Bogotá. Ucin. 2001;2:7-15.
6. Miranda J, Sánchez I, Matar S. Detección de *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas del hospital San Jerónimo de Montería. Inf Quinc Epidemiol Nac. 2002;7:193-208.
7. Restrepo A, Serna L, Vanegas C, Sarria C, Durango H, Zapata C. Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en gestantes con factores de riesgo y sus recién nacidos. Hospital Universitario San Vicente de Paúl, 2002. Infectio. 2003;7:147-52.
8. Fenton L, Harper M. Evaluation of colistin and nalidix acid in Todd Hewitt broth for selective isolation and group B *Streptococci*. J Clin Microbiol. 1979;9:176-9.
9. De la Rosa M, Pérez M, Corazo C, Pareja L, Peis JI, Hernandez F. New Granada medium for detection and identification of group B *Streptococci*. J Clin Microbiol. 1992;30:1019.
10. Bosch J, Martín R, Jiménez M. Estudio comparativo de tres medios de cultivos para detectar colonización por estreptococo del grupo B en la mujer embarazada. Enferm Infect Microbiol Clin. 2003;21:346-9.
11. Elsayed S, Gregson D, Church D. Comparison of direct selective versus nonselective agar media plus LIM broth enrichment for determination of group B *Streptococcus* colonization status in pregnant women. Arch Pathol Lab Med. 2003;127:718-20.
12. Nguyen T, Gauthier D, Myles T, Nuwayhid B, Viana M, Schreckenberger P. Detection of group B *Streptococcus*: comparison of an optical immunoassay with direct plating broth-enhanced culture methods. J. Matern Fetal Med. 1998;7:172-6.
13. Orsello C, Dommermuth R. Maximizing neonatal early-onset group B streptococcal disease prevention with universal culture screening at 35 to 37 weeks gestation: a comparison of GBS detection rates between LIM broth and CNA culture media. Fam Med. 2003;35:411-3.
14. Greenberger RS. Epidemiología médica. Mexico: Editorial Manual Moderno; 2005. p. 81-95.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: A public health perspective. Morb Mortal Wkly Rep. 1996;44:RR-7.
16. Díaz T, Nieves B, Vegas L. Colonización vaginoanorrectal por *Streptococcus* del grupo B en mujeres embarazadas con complicaciones ginecoobstétricas. Rev Soc Ven Microbiol. 2002;22:12-7.
17. Mandel, Douglas and Bennett's. Principles and practice of infectious diseases. Fourth edition. New York: Churchill-Livingstone; 1995. p. 2055-65.
18. 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;42:3975-7.
19. Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, Schuchat A. Prevention of perinatal group B streptococcal disease, revised guidelines from CDC. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2002;16:51:1-22.
20. Rauen NC, Wesenberg EM, Cartwright CP. Comparison of selective and nonselective enrichment broth media for the detection of vaginal and anorectal colonization with group B streptococcus. Diagn Microbiol Infect Dis. 2005;51:9-12.
21. García E, Rodríguez M, Bartolomé R, Borjano B, Cabrero I, Andreu A. Evaluation of the Granada agar plate for detection of vaginal and rectal group B *Streptococci* in pregnant women. J Clin Microbiol. 1999;37:2648-51.
22. Overman S, Eley D, Jacobs B, Ribes J. Evaluation of methods to increase the sensitivity and timeliness of detection of *Streptococcus agalactiae* in pregnant women. J Clin Microbiol. 2002;40:4329-31.