

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E INMUNOLOGIA



**“EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR E IDENTIFICACIÓN DE SEROTIPOS  
DEL ESTREPTOCOCO DEL GRUPO B, EN UN HOSPITAL DE TERCER  
NIVEL DE ATENCIÓN DEL NORESTE DE MÉXICO.”**

POR:

**QBP. KARLA MARIANA LEAL OLVERA.**

Como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias con Orientación  
en Inmunobiología

Ciudad Universitaria

Noviembre 2019

---

**COMITÉ DE TESIS**

---

**Dra. Cristina Rodríguez Padilla.**

Presidente

---

**Dr. José Manuel Vázquez Guillén.**

Secretario

---

**Dr. Moisés Armides Franco Molina.**

Vocal 1

---

**Dra. Lydia Guadalupe Rivera Morales.**

Vocal 2

---

**Dr. Edgar Mendoza Gamboa.**

Vocal 3

---

*“This is neither an end nor a beginning,  
but a going on, with all the wisdom  
that experience can instill in us.”*

- Hal Borland

---

## **FINANCIAMIENTO**

El apoyo a la investigación científica de este trabajo ha sido brindado por parte del Laboratorio de Inmunología y Virología del Departamento de Microbiología de la Universidad Autónoma de Nuevo León y la Red Temática Inmunopatogénesis e Inmunoterapia en Cáncer y Enfermedades Infecciosas “INMUNOCANEI” de CONACYT. Grant No. 280135. Además del apoyo financiero por parte del Instituto Mexicano del Seguro Social para investigación sobre temas prioritarios de salud con el número FIS/IMSS/PROT/PRIO/15/047.

---

## LUGAR DE TRABAJO

La realización de este proyecto fue un proyecto interinstitucional, llevándose a cabo la toma de muestras en la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) No. 23, Hospital de Ginecología y Obstetricia, “Dr. Ignacio Morones Prieto” perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social; mientras que la realización del proceso experimental se llevó a cabo en la Unidad de Infectología Molecular (UIMO) del Laboratorio de Inmunología y Virología, del Departamento de Microbiología e Inmunología pertenecientes a la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección general de la Dra. Cristina Rodríguez Padilla como Directora Interna y del Dr. Gerardo del Carmen Palacios Saucedo como Director Externo.

---

**Dra. Cristina Rodríguez Padilla**

Directora Interna

---

**Dr. Gerardo del Carme Palacios Saucedo**

Director Externo

---

## INDICE

COMITÉ DE TESIS .....	i
FINANCIAMIENTO .....	iii
LUGAR DE TRABAJO .....	iv
INDICE .....	v
AGRADECIMIENTOS .....	viii
DEDICATORIA .....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xi
ABREVIATURAS .....	xii
RESUMEN .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. ANTCEDENTES .....	3
1. <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	3
1.1 Microbiología .....	4
1.2 Identificación .....	5
2. Epidemiología .....	6
2.1 Colonización materna. ....	6
2.2 Enfermedad en la mujer embarazada .....	9
2.3 Enfermedad en el lactante .....	10
2.3.1 Enfermedad de inicio temprano (EOD) .....	11
2.3.2 Enfermedad de inicio tardío (LOD) .....	12
3. Polisacárido capsular (CPS) .....	12
3.1 Serotipo I .....	14
3.2 Serotipo III .....	14
3.3 Serotipo IV .....	14
3.4 Serotipo V .....	15
4. <i>Streptococcus agalactiae</i> en México .....	16
III. JUSTIFICACIÓN .....	19
IV. HIPÓTESIS .....	20
V. OBJETIVOS .....	21

---

V.I Objetivo General .....	21
V.II Objetivos Específicos .....	21
VI. MATERIAL Y METODOS .....	22
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL .....	22
1. Diseño del estudio. ....	23
2. Lugar de trabajo.....	24
2.1 Toma de muestras clínicas. ....	24
2.2 Procesamiento de la muestra.....	24
3. Criterios de selección de la muestra. ....	25
3.1 Criterios de inclusión. ....	25
3.2 Criterios de exclusión.....	25
3.3 Criterios de eliminación. ....	25
4. Toma de muestra. ....	25
4.1 En la mujer embarazada. ....	25
4.2 En el recién nacido.....	26
5. Procedimientos de laboratorio.....	27
5.1 Aislamiento del <i>S. agalactiae</i> .....	27
5.2 Identificación del <i>S. agalactiae</i> . ....	28
5.2.1 Tinción de Gram .....	28
5.2.2 Prueba de catalasa .....	29
5.2.3 Prueba de hidrólisis del hipurato .....	30
5.2.4 Prueba de CAMP .....	31
5.2.5 Aglutinación en látex por medio del StrepPRO™ Streptococcal Grouping Kit 33	
5.2.6 Crecimiento en el medio Strep B Carrot Broth™ Kit.....	35
5.3 Determinación del serotipo mediante el kit ImmuLex™ STREP-B .....	36
5.4 Análisis de tipos clonales del <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	38
5.5 Análisis estadístico .....	39
VII. RESULTADOS .....	40
1. Determinar la tasa de colonización por el Estreptococo del Grupo B (EGB) en mujeres embarazadas.....	40
1.1 Aislamiento e identificación del Estreptococo del grupo B (EGB) en mujeres embarazadas. ....	40

---

---

1.2 Determinar la prevalencia del Estreptococo del grupo B (EGB) tanto en mujeres embarazadas como en sus recién nacidos. ....	41
2. Determinar la tasa de transmisión del EGB de las mujeres embarazadas a sus recién nacidos. ....	41
3. Identificar y evaluar la distribución de los serotipos del EGB en mujeres embarazadas y sus recién nacidos. ....	42
4. Evaluar la existencia de clonas de EGB en mujeres embarazadas y sus recién nacidos. ....	43
5. Identificar los posibles factores predisponentes para la colonización por EGB. ....	44
VIII. DISCUSIÓN .....	46
IX. CONCLUSIONES.....	50
X. PERSPECTIVAS .....	51
XI. BIBLIOGRAFIA.....	52
XII. ANEXOS .....	63
1. Protocolo de Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PFGE) para el <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	71
2. Constancia por la capacitación de la técnica de Electroforesis en Gel de Campos Pulsados (PFGE). ....	75
3. Certificado de participación en la capacitación en el Manejo del sistema Mapper XA. ....	76
XIII. RESUMEN BIOGRÁFICO .....	77
Q.B.P. Karla Mariana Leal Olvera .....	77
Candidato para el grado de.....	77
Maestro en Ciencias con Orientación en Inmunobiología .....	77



---

## AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobretodo felicidad.

A la **Dra. Cristina Rodríguez Padilla** por haberme brindado la oportunidad de desarrollar este trabajo de tesis; porque a pesar de todas las adversidades presentadas siempre me demostró su apoyo incondicional, confianza y dedicación. Gracias por haberme brindado la oportunidad de crecer y aprender cosas nuevas.

Al **Dr. José Manuel Vázquez Guillén**, por su asesoría y consejos. Por todo el apoyo brindado a lo largo de la carrera. Por su tiempo, amistad y por los conocimientos transmitidos.

Al **Dr. Gerardo del Carme Palacios Saucedo** a todo el personal de la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) No. 23 Hospital de Ginecología y Obstetricia “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

A la **Dra. Lydia Guadalupe Rivera Morales**, gracias por brindarme todas las facilidades necesarias para la realización de este proyecto de tesis, ya que esta fue fundamental para mi formación como profesionista. Por su colaboración y asesoría en la realización en el trabajo experimental.

**A mi familia** por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad.

---

## DEDICATORIA

A **mi familia**; por todo el amor recibido, la dedicación y la paciencia con la que cada día se preocupaban por mi desarrollo tanto personal como profesional; por siempre confiar y creer en mí y en mis expectativas. Gracias por apoyarme en todo momento.

A **mis padres Rogelio Pablo Leal Rodríguez y Ma. Antonieta Olvera de Leal**; por su apoyo y consejo; por cada palabra de aliento que me han dado y por su guía a lo largo de mi vida personal y profesional. Por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación. Por ser un excelente ejemplo de vida a seguir, pero sobretodo, gracias por creer en mí y siempre estar a mi lado.

A **mis hermanas Pamela Estefanía Leal Olvera y Ana Karen Leal Olvera**; por su cariño y amistad, por estar conmigo en esas largas y agotadoras noches de estudio, en las que su compañía y apoyo me motivo a seguir adelante en los momentos de desesperación. .Gracias por llenar mi vida de alegrías y amor cuando más lo he necesitado.

A **mis abuelos; Gilberto Olvera Ortega y Ma. Antonieta Hernández Rojas**; a mi **tía Alma Ivonne Olvera Hernández**, por siempre apoyarme. Por todos los consejos y el apoyo que me brindan en los momentos difíciles de la vida. Gracias por siempre creer en mí.

A mis **maestros Dra. Cristina Rodríguez Padilla, Dra. Lydia G. Rivera Morales y Dr. José Manuel Vázquez**, les agradezco la confianza, el apoyo y dedicación que siempre me brindaron. Por apoyarme en cada paso y decisión tomada. Gracias por haber compartido conmigo sus conocimientos y consejos. Gracias por su amistad.

*“Today I close the door to the past, open the door to the future, take a deep breath, step on through and start a new chapter in my life.”*

*-Pocket Full Of Sunshine.*

---

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
1	Prevalencia de la colonización por el <i>Streptococcus agalactiae</i> en mujeres embarazadas en México.	16
2	Características sociodemográficas y gineco-obstétricas. La mayoría de las mujeres colonizadas por EGB, tuvieron entre 20-24 años de edad, perteneciendo a un nivel socio-económico de pobreza relativa, además de presentar un historial de infección.	45
3	Características clínicas y obstétricas de las cinco mujeres embarazadas colonizadas por el Estreptococo del Grupo B (EGB) del presente estudio.	46

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
1	Colonias <i>Streptococcus agalactiae</i>	4
2	Prueba de CAMP	5
3	Infección ascendente por Estreptococo del Grupo B	7
4	Ciclo de vida de los Estreptococos del grupo B como patógeno neonatal.	8
5	Estrategia experimental.	22
6	Toma de muestra vagino-rectal.	26
7	Proceso de toma de muestra y aislamiento.	27
8	Proceso de la tinción de Gram.	29
9	Prueba de catalasa	30
10	Prueba de hidrólisis del hipurato.	31
11	Esquema de estriado para la prueba de CAMP.	32
12	Resultado de la prueba de CAMP.	32
13	Esquema de StrepPRO tm Streptococcal Grouping kit.	34
14	Crecimiento de <i>S. agalactiae</i> en el medio Strep B Carrot Broth tm.	36
15	Determinación del serotipo de la muestra p014 mediante el kit IMMULEXtm Strep-B.	38
16	<i>S. agalactiae</i> en agar Columbia +5% sangre de carnero.	40
17	Tasa de colonización en mujeres embarazadas.	41
18	Tasa de colonización en la población de recién nacidos.	41
19	Serotipos aislados en la población de mujeres embarazadas.	42
20	Patrón electroforético de los serotipos encontrados mediante la técnica de electroforesis en gel de campos pulsados (PFGE).	43

## ABREVIATURAS

<b>°C</b>	grados centígrados
<b>μl</b>	Microlitro
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>BHI</b>	Agar cerebro corazón
<b>CA</b>	California
<b>CAMP</b>	Christie- Atkins- Munch-Peterson test
<b>CC17</b>	Complejo Clonal 17
<b>cm</b>	centímetros
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>CONACYT</b>	Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
<b>CPS</b>	Polisacárido Capsular
<b>EGB</b>	Estreptococo del Grupo B
<b>EOD</b>	Enfermedad de Inicio Temprano
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrógeno
<b>h</b>	horas
<b>IAP</b>	Profilaxis Antibiótica Intraparto
<b>Inc.</b>	Incorporated
<b>INMUNOCANEI</b>	Red Temática Inmunopatogénesis e Inmunoterapia en Cáncer y Enfermedades Infecciosas
<b>INPer</b>	Instituto Nacional de Perinatología
<b>LIV</b>	Laboratorio de Inmunología y Virología
<b>LOD</b>	Enfermedad de Inicio Tardío
<b>min</b>	minutos
<b>ml</b>	mililitro
<b>mm</b>	milímetro
<b>NT</b>	no tipificables
<b>OD</b>	densidad óptica
<b>PFGE</b>	Electroforesis en Gel de Campos Pulsados
<b>RDP</b>	Patrón de Digestion-Restrincción
<b>REDP</b>	Patrones de Digestión de Endonucleasas de Restricción
<b>rpm</b>	revoluciones por minuto
<b>s</b>	segundos
<b>ST</b>	tipo de secuencia
<b>TBE</b>	tris, borato y EDTA

---

## RESUMEN

**OBJETIVO.** Evaluación de la epidemiología clínica e identificación de los serotipos del Estreptococo del Grupo B (EGB) en la infección perinatal en un hospital de tercer nivel de atención del Noreste de México. **METODOLOGÍA.** Bajo consentimiento informado se realizó el cultivo microbiológico de muestras vagino-rectales a mujeres embarazadas de entre las semanas 35-37 de gestación, que ingresaron por trabajo de parto o cesárea programada, y a todos los recién nacidos de madres colonizadas por el EGB de la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) No. 23 Hospital de Ginecología y Obstetricia “Dr. Ignacio Morones Prieto”, perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social en Monterrey, Nuevo León, en el periodo de Agosto del 2016 a Julio del 2017 para la detección del EGB. La identificación de los serotipos de los aislados de EGB se realizó mediante pruebas de catalasa, tinción de Gram, así como las pruebas de identificación específicas, como lo son, hidrólisis de hipurato, prueba de CAMP, crecimiento en el medio cromogénico Strep B Carrot Broth™ Kit y la prueba de aglutinación de látex para identificación de grupo por medio del SLIDEX® STREPTO PLUS kit. La determinación de los serotipos se realizó mediante el ImmuLex™ Strep-B, el cual permite la identificación de los serotipos Ia, Ib-IX. Se evaluó la distribución clonal de los aislados, mediante la técnica de Electroforesis en Gel de Campos Pulsados (PFGE). **RESULTADOS.** Se realizó el cultivo microbiológico a las 221 muestras obtenidas de las pacientes embarazadas y sus recién nacidos, siendo posible el aislamiento de 5 cepas pertenecientes al *Streptococcus agalactiae*, observando una prevalencia del 2.26% ( $5/221$ ). En cuanto a la transmisión madre-producto, se obtuvo una transición del 0% y cabe mencionar que ninguno de los recién nacidos presentó complicaciones en el seguimiento a tres meses posteriores al parto. Al realizar la serotipificación en látex fue posible la identificación del 1 aislado perteneciente al serotipo Ia/Ib, 2 aislados del serotipo III, 1 aislado del serotipo IV y uno del serotipo V. La PFGE se realizó a los 5 aislados obtenidos, sin embargo, ya que no se contó con un mayor número de aislados pertenecientes a los serotipos Ia/Ib, IV y V no fue posible estudiar su patrón clonal, sin embargo, no se encontró una similitud en los dos patrones electroforéticos pertenecientes al serotipo III.

---

## ABSTRACT

**AIMS.** Evaluation of clinical epidemiology and identification of Streptococcus Group B serotypes in the perinatal infection in a third level hospital from the Northeaster of Mexico. **METHODOLOGY.** Under informed consent the microbiological culture of vagino-rectal cultures from 221 pregnant women between weeks 35-37 of gestation who were admitted for labor, and all new borns from colonized mothers were performed, the samples were taken in the Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) No. 23 Hospital de Ginecología y Obstetricia “Dr. Ignacio Morones Prieto”) from the Instituto Mexicano del Seguro Social in Monterrey, Nuevo León, México, in a period from August 2016 to July, 2017, for the screening of the *Streptococcus agalactiae*. The identification of the bacterial was made using the Gram stain to know the microscopical structure, and the use of the catalase test, hippurate hydrolysis, the CAMP test, Strep B Carrot Broth™ Kit growth, and the use of the StrepPRO™ Streptococcal Grouping Kit. Serotyping was made, using the IMMULEX™ STREP-B latex kit, with this kit the commonly isolated GBS isolates can be serotyped and placed within all 10 known serotypes (Ia, Ib - IX). The clonal distribution was evaluated in 2 of the 5 isolates, using the Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE). **RESULTS.** After the microbiological culture of the 221 samples collected, the EGB was present on 5 samples having a prevalence of 2.26% (5/221). Having a 0% in transmission from colonized mother to new born, it's worth noticing that none of the newly born had any complications in the 3 months follow up after delivery. Of the five positive isolates, it was possible to identify 1 isolate from serotype Ia/Ib, two from serotype III, 1 from serotype IV and 1 from serotype V. The PFGE was performed to the 5 positive isolates, in result of the low number of isolates from serotypes Ia/Ib, IV and V it was not possible to study their clonal pattern, nonetheless the clonal pattern from the 2 serotypes III isolates show a no similitude between them.

---

## I. INTRODUCCIÓN

El estreptococo del grupo B (EGB) o *Streptococcus agalactiae*, es un patógeno oportunista Gram-positivo y principal causante de infecciones neonatales. Este microorganismo coloniza los tractos gastrointestinal y genitourinario de aproximadamente el 40% de la población femenina y el 30% de la población masculina (Diseases, 2006; Bliss, et al., 2002). Durante el embarazo este puede llegar a ocasionar neumonía, septicemia y meningitis, además de presentar una alta morbilidad en mujeres embarazadas y personas adultas, y en los pacientes inmunocomprometidos es responsable de un alto índice de mortalidad (Dermer, Lee, Eggert, & Few, 2004).

En la década de 1970 la tasa de sepsis temprana por EGB en los Estados Unidos de América (EUA) se calculaba en 1.7 casos por cada 1,000 nacidos vivos, con una letalidad cercana al 50% (Baker & Barret, 1974; Verani, McGee, & Schrag, 2010). Gracias al conocimiento sobre la fisiopatogenia y el comportamiento clínico de la enfermedad, así como el entendimiento de la colonización previa como principal factor de riesgo, y el desarrollo de guías clínicas; a finales de la década de los 90's, fue posible lograr una disminución en esta tasa de mortalidad de  $0.37/1,000$  recién nacidos vivos. Sin embargo, el EGB sigue siendo la causa más común de sepsis y meningitis neonatal en EUA y en países desarrollados (Phares, et al., 2008; Centers for Disease Control and Prevention, 2010; Verani, McGee, & Schrag, 2010).

En México, no se realiza la búsqueda intencionada de la colonización por el EGB, ni se administra profilaxis intraparto, debido que hasta el momento la información disponible hace considerar al EGB como una causa poco común de infecciones perinatales (Sólorzano-Santos, et al., 1989; Sólorzano-Santos, Díaz-Ramós, & Arredondo-García, 1990; González-Pedraza, Ortíz-Zaragoza, Madrigal de Leon, Corzo-Coello, & Flores-Huitron, 2004; Villaseñor-Sierra, Morales-Velázquez, Palacios-Saucedo, & Solórzano-Santos, 2004; Palacios-Saucedo, 2009).



---

No obstante, diversos estudios han encontrado porcentajes de colonización vaginal de hasta un 20% en mujeres embarazadas y una tasa de infección neonatal de  $\frac{1}{1,500}$  recién nacidos vivos con una letalidad del 38.5% (Sólorzano-Santos, Díaz-Ramós, & Arredondo-García, 1990; González-Pedraza, Ortiz-Zaragoza, Madrigal de Leon, Corzo-Coello, & Flores-Huitron, 2004; Villaseñor-Sierra, Morales-Velázquez, Palacios-Saucedo, & Solórzano-Santos, 2004). Por otro lado, una encuesta seroepidemiológica de alcance nacional en la que se evaluó la presencia de anticuerpos contra el antígeno de grupo de EGB en mujeres de entre los 15 y 40 años de edad, demostró una alta tasa de exposición al EGB, con una seroprevalencia del 90% (Palacios-Saucedo, et al., 2002).

Debido a que la mayoría de la información relacionada con la participación de EGB en la patología perinatal en México corresponde a estudios realizados en el centro del país (Sólorzano-Santos, et al., 1989; Sólorzano-Santos, Díaz-Ramós, & Arredondo-García, 1990; Sólorzano-Santos, et al., 1990; Palacios-Saucedo, Eskew, Solorzano-Santos, & Mattingly, 1997; Palacios-Saucedo, et al., 2005; Palacios-Saucedo, et al., 2007; Palacios-Saucedo, 2009; Reyna, Ortiz, Esteves, & Casanova, 2007; González-Pedraza, Ortiz-Zaragoza, Madrigal de Leon, Corzo-Coello, & Flores-Huitron, 2004; Villaseñor-Sierra, Morales-Velázquez, Palacios-Saucedo, & Solórzano-Santos, 2004) y a la inexistente información sobre este microorganismo en el área metropolitana de Monterrey y en todo el noreste de México, se planteó la realización de este estudio, que permita evaluar la epidemiología clínica de la infección perinatal por estreptococo del grupo B en el noreste de México, a través de un estudio realizado en la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) No. 23, Hospital de Ginecología y Obstetricia “Dr. Ignacio Morones Prieto”, el cual al pertenecer al Instituto Mexicano del Seguro Social, cuenta con una cobertura hospitalaria la cual abarca diversos estados del noreste del país.

---

## II. ANTECEDENTES

### 1. *Streptococcus agalactiae*

El *Streptococcus agalactiae* (estreptococos del grupo B o EGB) fue reconocido inicialmente como un patógeno de interés veterinario, causante de la mastitis en el ganado; posteriormente se le relacionó como un patógeno causante de diversas enfermedades neonatales (Edmond, et al., 2012; Edwards & Baker, 2005; Fry, 1938; Phares, et al., 2008).

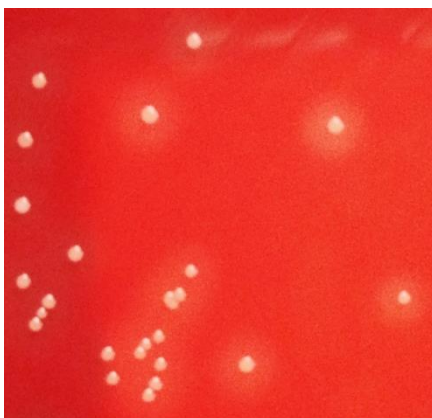
El primer aislamiento del estreptococo del grupo B en mujeres embarazadas fue realizado en 1935 (Lancefield & Hare, 1935); posteriormente en 1938 se presentó la primera serie de casos en donde este fue relacionado con tres casos de sepsis puerperal fatal reportados por Fry (Fry, 1938), el *S. agalactiae* continuó apareciendo de manera esporádica hasta que en la década de 1960 se registraron una serie de tres casos de infecciones maternas y neonatales (Butter & de Moor, 1967; Eickhoff, Klein, Daly, Ingall, & Finland, 1964; Hood, Janney, & Dameron, 1961), sin embargo no fue hasta 1973 cuando se estableció como el patógeno principal causante de bacteriemia, neumonía y meningitis, tanto en neonatos como en infantes menores de tres meses de edad (Baker C. J., Barret, Gordon, & Yow, 1973).

En 1934, Rebecca Lancefield describió los antígenos para los carbohidratos de la pared celular del EGB (antígenos específicos del grupo B), siendo estos comunes en todas las cepas conocidas hasta el momento de este microorganismo, permitiendo así la clasificación del EGB en diez serotipos diferentes (Ia, Ib, II al IX) (Lancefield, 1934). El polisacárido capsular es un importante factor de virulencia en la enfermedad invasiva causada por el *S. agalactiae*, el cual permite a la bacteria evadir mecanismos innatos de defensa del huésped. En un estudio realizado por Slotved y colaboradores (Slotved, Kong, Lambertsen, Sauer, & Gilbert, 2007) se observó una relación entre los diversos serotipos, y la virulencia del patógeno. Estos se encuentran codificados en el Cluster del Gen Capsular (CPS), existiendo variaciones demográficas, geográficas y temporales con respecto a los serotipos predominantes presentes en la población humana (Hickman, Rench, Ferrieri, & Baker, 1999; Lachenauer, et al., 1999).

---

## 1.1 Microbiología

El *Streptococcus agalactiae* es un diplococo, aerobio facultativo, Gram-positivo,  $\beta$ -hemolítico, el cual reside como un organismo comensal en el tracto gastrointestinal inferior y en la flora vaginal del 25% de las mujeres adultas sanas (Edwards, et al., 1985). El cultivo de este microorganismo es posible en una gran cantidad de medios bacteriológicos, en donde las colonias van de los 3-4mm, con un color blanco-grisáceo, planas, presentando en ocasiones una apariencia mucosa. Estas colonias se las puede encontrar rodeadas por una pequeña zona de  $\beta$ -hemólisis, la cual en ocasiones solo es observable si la colonia es retirada del medio de cultivo (Figura 1). Si bien la presencia de la  $\beta$ -hemólisis, es una de las características principales de este microorganismo, el 1%-2% de los aislados recuperados pertenecen a cepas no hemolíticas. Mientras que las cepas con  $\alpha$ -hemólisis son raramente identificadas (Stevens & Kaplan, 2000).



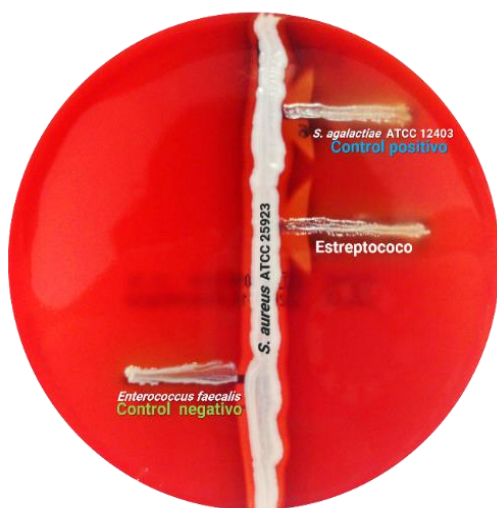
**Figura 1. Colonias de *Streptococcus agalactiae*.**  
Colonias características de *Streptococcus agalactiae* crecidas en agar Columbia sangre de carnero a 37°C, siendo posible observar la zona de  $\beta$ -hemólisis alrededor de las colonias.

Esta actividad hemolítica se debe al pigmento ornitina ramnolípido (comúnmente denominado "pigmento hemolítico"), el cual es producido por los genes del operón *cyl* (Whidbey, et al., 2013; Pritzlaff, et al., 2001). La transcripción de genes *cyl*, y por lo tanto la producción del pigmento hemolítico, está regulada negativamente por el sistema de dos componentes *CovR/S* (también conocido como *CsrR/S*) (Jiang, Cieslewicz, Kasper, & Wessels, 2005; Lamy, et al., 2004; Whidbey, et al., 2013). Dicha propiedad hemolítica ha demostrado tener un papel importante en la infección y la evasión del sistema inmune.

En un estudio realizado por Whidbey *et al.*, (2013) se mencionan al pigmento hemolítico como promotor para la penetración del EGB en la placenta humana (membranas corioamnióticas), además de inducir la pérdida de la función de barrera en células epiteliales amnióticas humanas, además de esto, Randis *et al.* (2014) observó una relación en la disminución de la diseminación bacteriana, la lesión fetal y el parto prematuro, en ratones que fueron inoculados vaginalmente con EGB no hemolítico (es decir, EGB carente de *cylE* (Whidbey, et al., 2013; Randis, et al., 2014).

## 1.2 Identificación

Como se mencionó anteriormente debido a que existen del 1%-2% de cepas no hemolíticas, la observación de la  $\beta$ -hemólisis es solamente una de las características a considerar en su identificación. Los métodos de laboratorio utilizados para la identificación presuntiva del estreptococo del grupo B incluyen; las pruebas de resistencia a la bacitracina o trimetoprim-sulfametoxazol, hidrólisis del medio hipurato de sodio, incapacidad de hidrolizar el medio bilis esculina, producción de pigmento naranja bajo ciertas condiciones, y un resultado positivo para la prueba de CAMP (*Figura 2*) (Stevens & Kaplan, 2000).



**Figura 2. Prueba de CAMP.**

En el centro del agar sangre se observa el crecimiento horizontal de la cepa  $\beta$ -hemolítica de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. En la parte superior derecha se observa el crecimiento del *S. agalactiae* ATCC 12403 (control positivo) siendo posible apreciar la zona de hemólisis en forma de punta de flecha en las uniones de las líneas horizontales y verticales, lo cual se considera como resultado positivo, el mismo que es observable en el crecimiento del aislado de un estreptococo, identificando al mismo como *S. agalactiae*. En la parte inferior izquierda, se observa el crecimiento del *Enterococcus faecalis* (control negativo), el cual no muestra una zona de hemólisis.

La identificación definitiva se basa en la detección del antígeno proveniente de la pared celular, específicamente de los carbohidratos que la componen, ya que esta es común en todas las cepas del grupo B. Se han desarrollado varios métodos serológicos, los cuales emplean antisueros específicos e hiper-inmunes del grupo B o anticuerpos monoclonales. Siendo la aglutinación de látex el método más ampliamente empleado para la identificación definitiva (Stevens & Kaplan, 2000).

---

## 2. Epidemiología

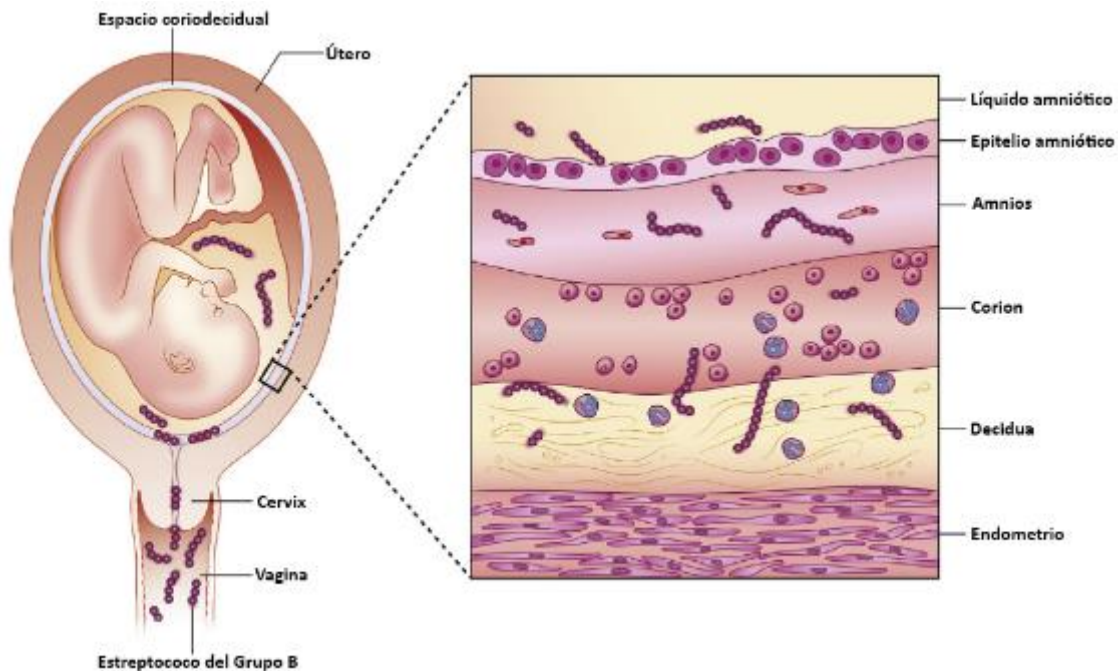
### 2.1 Colonización materna.

Debido a que el EGB es la principal causa de infección durante el embarazo (Hillier, Krohn, Kiviat, Watts, & Eschenbach, 1991; Allen, et al., 1999; Lawn, et al., 2010), la colonización vaginal por este microorganismo se ha identificado como un factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad neonatal (Stoll, et al., 2011; Le Doare & Heath, 2013) y el parto prematuro (Allen, et al., 1999; Lawn, et al., 2010). Las mujeres colonizadas vía vaginal durante el embarazo corren el riesgo de padecer una infección ascendente o de transmitir el EGB al recién nacido durante el parto. Dicha colonización puede ser transitoria, intermitente o crónica (Gibbs, Schrag, & Schuchat, 2004).

El producto de la gestación generalmente adquiere el EGB mediante la exposición a éste en el canal del parto de una mujer colonizada. Sin embargo, EGB puede infectar al recién nacido por diferentes vías.

- 1) La **infección ascendente** es una vía por la cual las bacterias vaginales se mueven desde la vagina, a través del cuello uterino, hacia el útero y penetran los tejidos gestacionales (Figura 3) (Vornhagen, Waldorf A, & Rajagopal, 2017). Una vez que el EGB ha invadido la cavidad amniótica o entra en contacto con la placenta, existe la posibilidad de una corioamnionitis o inflamación de las membranas placentarias, además de que este puede pasar a la vía respiratoria del producto. La colonización cervicovaginal se asocia a un alto riesgo de enfermedad por EGB, el cual se incrementa en presencia de ruptura de las membranas fetales mayor a 18 horas y en partos antes de las 36 semanas de gestación (Larsen & Sever, 2008; Edwards & Nizet, 2011).

La infección ascendente comúnmente se encuentra asociada con un mayor número de nacimientos prematuros y mortinatos (Verani, McGee, & Schrag, 2010; Romero, Dey, & Fisher, 2014).



**Figura 3. Infección ascendente por el Estreptococo del Grupo B.**

La colonización vaginal por el EGB aumenta el riesgo de una infección ascendente durante el embarazo. Esta infección ascendente durante el embarazo implica el tráfico de bacterias desde la vagina, lo que en última instancia conduce a la invasión bacteriana de las membranas placentarias (corion y amnios), la cavidad amniótica y el feto. Tomado y modificado de: Vornhagen, J., Waldorf A, K. M., & Rajagopal, L. (2017). Perinatal Group B Streptococcal Infections: Virulence Factors, Immunity, and Prevention Strategies. Trends in Microbiology, 25(11), 919-931.

La colonización cuantitativamente elevada de *S. agalactiae*, en especial los serotipos Ia y III, ya sea en la vagina, el recto o la orina de mujeres embarazadas, se considera un factor de riesgo para la aparición de sepsis neonatal o puerperal (Benitz, Gould, & Druzin, 1999).

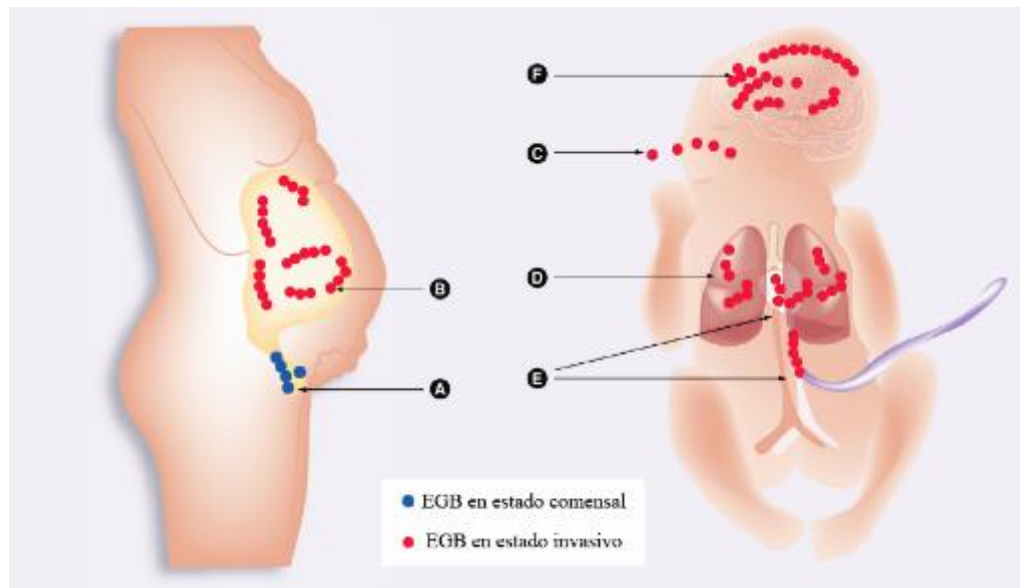
- 2) **Antes o durante el parto.** La transmisión se cree ocurre justo antes o durante el parto, cuando el EGB asciende el tracto genital hacia el líquido amniótico, en donde este es aspirado o ingerido por el neonato (Schuchat, 1998). El riesgo de infección se incrementa cuando ocurre asfixia al nacimiento debido al incremento en el tamaño del inóculo aspirado.

Esta forma de infección ocurre ya que el EGB puede invadir el epitelio alveolar y las células endoteliales pulmonares, un proceso que puede facilitar la entrada al torrente sanguíneo (Santos, Miyazaki, Mattos-Guaraldi, & Nagao, 2003; Lione, Santos, Hirata Jr, Mattos-Guaraldi, & Nagao, 2005) (Figura 4).

**3) Vía hematógono-transplacentaria.** En estos casos el EGB llega al producto por la vía hematógica a través de la placenta; cuando la mujer embarazada tiene un proceso infeccioso por EGB como, infección de vías urinarias, mastitis, corioamnionitis, etc., y puede cursar con bacteriemia. Por la vía sanguínea este microorganismo puede alcanzar y cruzar la barrera placentaria para infectar así al producto (Figura 4).

**4) Por contigüidad.** Ocurre cuando el producto se infecta desde procesos infecciosos localizados en o cerca de donde se lleva a cabo el proceso de la gestación, como infección de los anexos (salpingitis, enfermedad inflamatoria pélvica, etc.) y corioamnionitis.

**5) Adquisición nosocomial.** Se han descrito casos de transmisión en el hospital a través de las manos del personal sanitario (Larsen & Sever, 2008; Edwards & Nizet, 2011).



**Figura 4. Ciclo de vida de los estreptococos del grupo B como patógeno neonatal.**

(A) EGB reside como comensal en el tracto genital y gastrointestinal inferior de las mujeres. (B) El EGB puede infiltrarse en el compartimento intrauterino de las madres embarazadas portadoras asintomáticas. (C) El recién nacido aspira al EGB en el útero o durante el parto. (D) El EGB invade los pulmones causando neumonía neonatal. (E) A partir de los pulmones, el EGB accede al torrente sanguíneo del neonato, causando sepsis, invadiendo varios órganos, incluyendo el corazón del neonato. (F) El EGB penetra la barrera hematoencefálica causando meningitis. Tomado y modificado de: Future Microbiology, March 2009, Vol. 4, No. 2, 201-221.

---

Estudios transversales en los Estados Unidos han encontrado una tasa de colonización mayor en mujeres afroamericanas en comparación con las mujeres caucásicas o asiáticas (Regan, Klebanoff, & Nugent, 1991).

Se estima que entre un 20 - 30% de todas las mujeres embarazadas son portadoras de EGB, y es probable que todas las mujeres hayan estado colonizadas por el en algún momento de sus vidas (Boyer, et al., 1983; Yancey, Schuchat, Brown, Ventura, & Markenson , 1996). Ocurriendo la transmisión vertical del estreptococo del grupo B en aproximadamente el 50% de los recién nacidos de madres colonizadas, de los cuales del 1-2% desarrollan la enfermedad de inicio temprano (Madhi, et al., 2013).

## **2.2 Enfermedad en la mujer embarazada**

En la mujer embarazada, el EGB puede causar infecciones del tracto urinario, corioamnionitis, endometritis, bacteriemia y, en algunos casos mortinato. Si bien las bacterias Gram positivas, incluyendo a los enterococos, *Staphylococcus saprophyticus*, y el *Streptococcus agalactiae* pueden causar infecciones del tracto urinario, tanto de mujeres embarazadas como no embarazadas, los microorganismos comúnmente aislados en estas infecciones son *Escherichia coli* y los bacilos Gram-negativos, en el 80-90%, de los casos (Sweet & Gibbs, 2002).

En los casos en los que el EGB ha estado presente este se ha aislado en un 16% en el endometrio (Rosene, Echenbach, Tompkins, Kenny, & Watkins, 1986), en un 15% del líquido amniótico (Sperling, Newton, & Gibbs, 1988), y de un 2-15% en la herida abdominal infectada después del parto por cesárea (Blanco & Gibbs, 1980; Emmons, Krohn, Jackson, & Eschenbach, 1988; Roberts, Maccato, Faro, & Pinell, 1993), cabe mencionar que en los pacientes con bacteriemia, este es encontrado en el 15% de los casos (Blanco, Gibbs, & Castaneda, 1981) siendo el segundo microorganismo más frecuente, después de *E. coli*. Se estime que la infección bacteriana se es la causa del 9-15% de los mortinatos. Siendo la infección una de las causas más comunes de muerte fetal temprana (menos de 28 semanas), que el mortinato a término (Gibbs, 2002).



---

A pesar del hecho de que el estado inmune de las madres colonizadas parece jugar un papel en proveer la protección a sus hijos, diversos estudios han sugerido que las diferencias en la virulencia de los aislados de EGB pueden contribuir también en el desarrollo de infección neonatal (Baker C. J., 2000).

### 2.3 Enfermedad en el lactante

La enfermedad estreptocócica invasiva del grupo B en el lactante, se presenta en los primeros 3 meses de vida, siendo dividida en dos tipos, enfermedad de inicio temprano (Early Onset Disease; EOD), enfermedad de inicio tardío (Late Onset Disease; LOD) y enfermedad de inicio tardío tardío (Very Late Onset Disease; VLO) que difieren según la edad del bebé en el momento de la presentación clínica, así como el posible mecanismo de transmisión. La **enfermedad de inicio temprano (EOD)** se presenta dentro de la primera semana de vida, siendo evidente la mayoría de los casos en el día del nacimiento o dentro de las primeras 72 horas de vida. La **enfermedad de inicio tardío (LOD)**, ocurre después de la primera semana de vida, presentándose los casos a través de los 90 días de edad (Libster, et al., 2012), mientras que la **enfermedad de inicio tardío tardío (VLO)**, se presenta después de los primeros tres meses de vida (89-180 días) (Thigpen, et al., 2011; American Academy of Pediatrics, 2012). La enfermedad invasiva, puede causar; sepsis, neumonía, meningitis, y con menor frecuencia, infecciones focales como osteomielitis, artritis séptica, o celulitis (Cowgill, Taylor, Schuchat, & Schrag, 2004). La letalidad reportada por este microorganismo en países desarrollados es del 30% en recién nacidos menores de 33 semanas de edad gestacional, y de un 2-3% en recién nacidos de término (Phares, et al., 2008).

Durante la década de 1990 sugirió una tasa de letalidad del 4.7% en el caso de la enfermedad de inicio temprano y el 2.8% para la enfermedad de inicio tardío. Para los bebés de más de 37 semanas con sepsis por EGB, la supervivencia es del 98%, pero para los recién nacidos prematuros la supervivencia es más baja; para los nacidos durante las semanas 34-36 está su supervivencia es del 90%, en los nacidos en menos de 33 semanas la supervivencia es del 70% (Schrag, et al., 2000).

---

Las medidas preventivas contra la enfermedad neonatal causada por el EGB, implican la profilaxis antibiótica intraparto (IAP) administrada a mujeres que presenten un resultado positivo en la colonización por EGB o aquellas que están en trabajo de parto prematuro, para de esta manera reducir la probabilidad de transmisión al bebé durante el nacimiento. Estas prácticas han reducido con éxito el número de casos de EOD; sin embargo, la incidencia de LOD se ha mantenido igual (Schrag, et al., 2000).

Cabe mencionar que en los países de ingresos medio-bajo, en donde no es posible realizar la implementación de la IAP, existe una variación sustancial en la incidencia de la enfermedad de inicio temprano. Los factores que subyacen a esta variación pueden incluir: diferencias en la determinación de casos y diagnósticos de laboratorio, y/o diferencias en la exposición y susceptibilidad de la población (Dagneu, et al., 2012).

### **2.3.1 Enfermedad de inicio temprano (EOD)**

La enfermedad de inicio temprano se desarrolla horas después del nacimiento y durante la primera semana de edad ( $\leq 7$  días) (Cowgill, Taylor, Schuchat, & Schrag, 2004), presentándose comúnmente como neumonía y sepsis (Doran & Nizet, 2004). Considerando como factor de riesgo más importante para esta enfermedad la colonización rectovaginal materna en el momento del nacimiento (Stoll, et al., 2011), debido a que el recién nacido se ve infectado cuando este inhala el fluido vaginal infectado, dando así la transmisión vertical de este microorganismos, o debido a una infección ascendente del canal vaginal por EGB, ya que este es capaz de cruzar las membranas intraplacentarias, infectando así el líquido amniótico (Katz & Bowes, 1988).

Los factores de riesgo para la enfermedad de inicio temprano han sido bien descritos e incluyen además de la colonización materna por el EGB, la ruptura prolongada de las membranas, el parto prematuro, la bacteriuria por el EGB durante el embarazo, un embarazo previo con un producto con enfermedad invasiva por EGB, corioamnionitis materna, madre joven, ser de raza afroamericana, etnia hispana, y tener bajos niveles de anticuerpos frente a los antígenos específicos para los polisacáridos capsulares (Boyer, et al., 1983) (Schuchat, et al., 1990) (Zalenznik, et al., 2000).

---

### **2.3.2 Enfermedad de inicio tardío (LOD)**

La enfermedad de inicio tardío ocurre apartir del 7° día después del nacimiento y hasta el día 89 (primeros tres meses de vida) (Schuchat, 1998), presentándose como una infección del torrente sanguíneo, conllevando consecuentemente a una meningitis, la cual puede ocurrir hasta en un tercio de los casos, siendo el riesgo de secuelas neurológicas a largo plazo mayor entre los sobrevivientes de la enfermedad de inicio tardío en comparación con los sobrevivientes de la enfermedad de inicio temprano (Gibbs, Schrag, & Schuchat, 2004).

La transmisión y la patogénesis de LOD son desconocidos en la actualidad, al igual que en los casos de aparición temprana, comparten factores de riesgo similares como la gestación pre-término (Lin F, Weisman, Troendle, & Adams, 2003), la etnia de la madre y la temprana edad de embarazo. Siendo la colonización materna por el EGB un factor de riesgo importante (Schuchat, et al., 1990), sin embargo, la colonización por EGB del canal de parto no es un factor crucial en la enfermedad de inicio tardío, como lo es en la enfermedad de inicio temprano, aunque la transmisión horizontal de madre a hijo sigue siendo posible después del nacimiento, siendo el uso de la quimioprofilaxis intraparto materna ineficaz en la prevención de la aparición de esta enfermedad (Berardi, et al., 2013).

### **3. Polisacárido capsular (CPS)**

Los polisacáridos capsulares asociados (capsular polysaccharide; CPS) a la superficie son características comunes de las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Se cree que estos polisacáridos extracelulares fueron desarrollados para la protección contra factores ambientales y del huésped perjudiciales para la supervivencia del mismo. En las bacterias patógenas, estos polisacáridos extracelulares permiten al microorganismo sobrevivir dentro del huésped, ya sea, enmascarando los determinantes antigénicos asociados con la superficie bacteriana (Howard & Glynn, 1971), imitando los antígenos del huésped (Hayrinen, Bitter-Suermann, & Finne, 1989; Wyle, et al., 1973) o interfiriendo con la muerte mediada por el complemento (Edwards, Kasper, Jennings, Baker, & Nicholson, 1982; Kim, Kang, & Cross, 1986).

---

Se han identificado diez serotipos que van del Ia, Ib, II al IX (Slotved, Kong, Lambertsen, Sauer, & Gilbert, 2007), los cuales presentan un patrón único de enlaces glicosídicos y se han elucidado sus estructuras primarias. Tres monosacáridos ( $\beta$ -D-glucopiranososa,  $\beta$ -D-Glc;  $\beta$ -D-galactopiranososa,  $\beta$ -D-Gal y  $\beta$ -D-N acetilglucosamina,  $\beta$ -D-GlcNAc) están presentes en todos los serotipos descritos, y ácido siálico (ácido  $\alpha$ -N-acetil-neuramínico, NeuNAc) siempre se encuentra en el extremo de una cadena (Berti, et al., 2014). Sin embargo, el patrón de enlaces glicosídicos es único para cada serotipo (Cieslewicz, et al., 2005).

Se cree que la evolución por un patógeno de tipos capsulares antigénicamente distintos está determinada por la presión selectiva impuesta por la inmunidad del huésped (Lipsitch, 1999). Sin embargo, la presión selectiva para desarrollar nuevos tipos capsulares puede ser contrarrestada por un beneficio de virulencia específico conferido por la conservación de una estructura de polisacárido particular (Melin & Efstratiou, 2013; Lamagni, et al., 2013).

Las estructuras unitarias repetitivas de los diez serotipos son similares en sus composiciones de monosacáridos constituyentes y en ciertos motivos estructurales, aunque difieren suficientemente para ser antigénicamente distintas. Siendo los serotipos predominantes causantes de enfermedad los serotipos, Ia, Ib, II, III, y, más recientemente, el serotipo V (Cieslewicz, et al., 2005; Le Doare & Heath, 2013). El serotipo IX se identificó solo en 2007, durante el análisis de tres aislamientos humanos que no reaccionaron con antisueros contra los nueve tipos de EGB descritos en ese momento, cabe mencionar que el serotipo IX también se ha visto relacionado como causa de infecciones neonatales (Melin & Efstratiou, 2013; Lamagni, et al., 2013).

Cinco de nueve serotipos capsulares, III, Ia, V, Ib y II, causan el 95% de las enfermedades invasivas (en frecuencia decreciente) (Edmond, et al., 2012), existiendo algunas variaciones geográficas (Le Doare & Heath, 2013). Siendo las más notorias, la frecuencia del tipo V, la cual se ha visto en aumentado en los últimos años; mientras que el serotipo IV ha emergido recientemente como una causa de la enfermedad invasiva adulta y neonatal (Ferrieri, Lynfield, Creti, & Flores, 2013). La distribución de los aislados en los casos de sepsis neonatal temprana es muy similar a lo encontrado en los aislados genitales de mujeres embarazadas. Sin embargo, en los casos de la enfermedad neonatal de aparición tardía, los aislados son predominantemente del serotipo III (Edwards & Nizet, 2011).

---

### **3.1 Serotipo I**

El serotipo Ia, puede sub-caracterizarse en dos subtipos, según sea la presencia del antígeno de proteína de superficie (antígeno c), conduciendo a la nomenclatura de serotipos Ia y Ia/c. Esta proteína C está presente en otros serotipos, pero es poco frecuente en cepas de tipo III (Fierreri, 1988). La proteína C tiene al menos dos componentes distintos,  $\alpha$  y  $\beta$ . Otras proteínas, designadas R, X, y Rib, las cuales se encuentran en algunas cepas, pero su papel biológico permanece indefinido (Stevens & Kaplan, 2000).

### **3.2 Serotipo III**

En los Estados Unidos y otros países desarrollados, en donde el estreptococo del grupo B sigue siendo la causa más frecuente de sepsis y meningitis neonatal, el serotipo III ha demostrado ser el serotipo más frecuente (Baker & Edwards, 1995) (Payne, et al., 1988). En particular, un linaje hipervirulento perteneciente al Complejo Clonal 17 (CC17), siendo este el responsable de la mayoría de los casos de enfermedad de inicio tardío (LOD), además de encontrarse asociada con la meningitis (Manning, et al., 2009; Joubrel, et al., 2015).

Se han identificado cuatro linajes filogenéticos diferentes de serotipo III EGB humano a partir de la PFGE de los patrones de digestión-restricción (RDP) y siendo designados como patrones de digestión-restricción tipo III-1, III-2, III-3 y III-4 (Takahashi, et al., 2002).

Los dos linajes más comunes del serotipo III los cuales colonizan a mujeres e infectan a bebés en los Estados Unidos y Japón, son los patrones de digestión de restricción tipo III-2 y III-3, mientras que las cepas III-1 y III-4 rara vez se aíslan del tracto genitourinario de mujeres, además de no ser relacionados comúnmente con la enfermedad invasiva en el neonato (Takahashi, et al., 2002; Bohnsack, et al., 2001).

### **3.3 Serotipo IV**

En los últimos años se ha reportado un aumento en el serotipo IV entre las cepas de enfermedades invasivas adultas, inicialmente se observó en un estudio de vigilancia en los Estados Unidos entre 1990-2007 (Skoff, et al., 2009), con reportes similares en Noruega (Bergseng, Rygg, Bevanger, & Bergh, 2008), Irlanda (Meehan, Cunney, & Cafferkey, 2014) y Canadá (Teatero, et al., 2014; Teatero, et al., 2015).

---

En Minnesota, EU entre 2004 y 2008 se observó un aumento en el aislamiento de este serotipo en las mujeres embarazadas (Diedrick, Flores, Hillier, Creti, & Ferrieri, 2010), mientras que un estudio realizado en el mismo estado durante 2000-2010 reportó un aumento de este serotipo, en las infecciones neonatales invasivas (Ferrieri, Lynfield, Creti, & Flores, 2013). En cuanto a lo que América Latina respecta, en el sur Brasil se aisló al EGB, IV, en los casos de LOD entre 2006 y 2008 (Palmeiro, et al., 2010).

En el 2012 un estudio realizado por Bellais et al., describió un cambio capsular putativo del CPS serotipo III al serotipo IV, dentro del complejo clonal hipervirulento (CC17) (Bellais, et al., 2012). El clon de tipo de secuencia (Secuence type; ST) IV ST-291 resultante, es una variante de locus único de ST-17, el cual muy probablemente evolucionó a partir de un único evento de recombinación en un fondo genético ST-17 debido al intercambio de un fragmento de ADN de 35.5 kb que contiene todo el operón *cps*. El intercambio de elementos cromosómicos grandes que abarcan cientos de kilobases entre cepas no relacionadas a través de conjugación y recombinación homóloga se ha mostrado como una de las principales fuerzas que impulsan la evolución del EGB (Brochet, y otros, 2008).

Un estudio de vigilancia realizado en las regiones de Lisboa y Valle del Tajo, Portugal entre el 2005 y el 2012 describió un aumento notable (20 veces) en la frecuencia del serotipo IV, siendo la cepa ST-291, el 10% de la totalidad de las muestras colectadas (Florindo, et al., 2014). Las cepas invasivas de tipo IV que pertenecen a ST-291 también se han aislado en Taiwan (Tien, et al., 2011), EUA (Ferrieri, Lynfield, Creti, & Flores, 2013), Irlanda (Meehan, Cunney, & Cafferkey, 2014) y Canadá (Teatero, et al., 2015). Además de la cepa ST-291 (CC17), las principales ST circulantes entre los aislados de serotipo IV incluyen las cepas ST-452 en CC23, ST-459 y ST-196 en CC1 (Teatero, et al., 2015).

### **3.4 Serotipo V**

De los diez serotipos descritos el serotipo V es uno de los que menos información se posee hasta el momento, ya que este rara vez fue aislado a mediados de la década de 1980, sin embargo ahora representan aproximadamente un tercio de los aislados clínicos en los EUA. Siendo el serotipo capsular más comúnmente asociado con la infección invasiva en adultos no gestantes (Harrison, et al., 1998; Lin, et al., 1998; Zalenznik, et al., 2000).

#### 4. *Streptococcus agalactiae* en México

En el primer estudio realizado en la ciudad de México sobre el EGB, se encontró colonización en 1.5% de las mujeres embarazadas (Collado, et al., 1981). Entre 1986 y 1987, el Instituto Nacional de Perinatología (INPer) de la ciudad de México, notificó una colonización del 10.3%, con una tasa de infección neonatal de  $\frac{1}{1,500}$  recién nacidos vivos y una mortalidad de 38.5% (Sólorzano-Santos, et al., 1989; Sólorzano-Santos, Díaz-Ramós, & Arredondo-García, 1990; Sólorzano-Santos, et al., 1990). Ocampo *et al.* realizaron un estudio en Los Altos, Chiapas, donde encontraron una colonización por el EGB en el 8.6% de la población estudiada (Ocampo-Torres, Sánchez-Pérez, Nazar-Beuelpacher, Castro-Ramírez, & Cordero-Ocampo, 2000).

**Tabla 1.** Prevalencia de la colonización por el *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas en México

Estudio	Año	Colonizados	No colonizados	Total Muestra	Prevalencia (%) <sup>*</sup>
Collado, et al.	1981	8	192	200	4
Narcio et al	1989	5	100	105	4.8
Sólorzano-Santos, et al	1989	35	305	340	10.3
Ocampo-Torres et al.	2000	78	832	910	8.6
González, et al.	2002	97	594	691	14
Villaseñor-Sierra, et al.	2004	16	107	123	13
González-Pedraza, et al.	2004	20	78	98	20.54
Romero, et al.	2005	2	431	433	0.46
Hernández & Soriano	2006	19	30	49	38.7

Reporte de estudios mexicanos.

\*Prevalencia (%)= colonizados x 100/total de la muestra

---

En México, los estudios realizados por Solorzano et al. demostraron que el serotipo I, es el serotipo dominante en México (33%), además de encontrar una baja participación del serotipo III (3%) con una alta prevalencia de cepas no tipificables (NT) (18,2%) (Sólorzano-Santos, et al., 1989; Sólorzano-Santos, Díaz-Ramós, & Arredondo-García, 1990; Sólorzano-Santos, et al., 1990).

Estudios posteriores han confirmado que el serotipo predominante en el centro y occidente de México es el serotipo I (58.8 – 61.3%), pero se ha documentado una mayor participación del serotipo III (5.9 – 12.8%), con una menor participación de aislados no-tipificables (0-5.9%) (Villaseñor-Sierra, Morales-Velázquez, Palacios-Saucedo, & Solórzano-Santos, 2004; Palacios-Saucedo, et al., 2005; Reyna, Ortiz, Esteves, & Casanova, 2007).

En estudios más recientes el 48.6% de las cepas aisladas de portadores asintomáticos, adultos con enfermedad invasiva y casos infantiles, pertenecieron al serotipo I, el 32.9% al serotipo III, el 14% al serotipo II y el 4% perteneció a las cepas no tipificables (Palacios-Saucedo, et al., 2005). Si bien en México predomina el serotipo I, parece haber ocurrido un incremento del serotipo III (el cual ha sido relacionado con la enfermedad invasiva en México) (Palacios-Saucedo, Eskew, Solorzano-Santos, & Mattingly, 1997) observándose un descenso en los aislados no tipificables, lo que sugieren un cambio en la epidemiología del EGB en nuestro país.

Se desconoce el porqué de la aparente baja incidencia de enfermedad neonatal por EGB en México. Una baja frecuencia de colonización por este microorganismo no parece razonable a la luz de 10.3% de colonización detectada en la mujer embarazada en el último estudio realizado en el país (Sólorzano-Santos, et al., 1989). Una elevada exposición al microorganismo ya sea continua o intermitente, podría inducir la presencia de anticuerpos protectores en la población y reducir el riesgo de enfermedad en el recién nacido. Estudios previos demostraron la existencia de portadores intermitentes y transitorios de EGB y el papel protector de los anticuerpos dirigidos contra el polisacárido capsular específico de tipo (Baker, Edwards, & Kasper, 1981; Marques, et al., 1994).



---

Debido a que parecen existir cepas de EGB con características de alta virulencia en otros países, es también posible la existencia de cepas autóctonas de baja virulencia en México (Musser, Mattingly, Quentin, Goudeau, & Selander, 1989; Helmig, Uldbjerg, Boris, & Killian, 1993). Aunque el antígeno de grupo del EGB no induce inmunoprotección, ya que los anticuerpos dirigidos contra él tienen poco poder opsonizante, los niveles de anticuerpos IgG específicos contra el antígeno de grupo B se incrementan con la colonización e infección por este microorganismo (Money, Dobson, & Infectious Diseases Committee, 2004; Sólorzano-Santos, Díaz-Ramós, & Arredondo-García, 1990).

Por lo tanto, parece ser un buen marcador epidemiológico para evaluar el grado de exposición a EGB en una población. No obstante, la información sobre la prevalencia de anticuerpos contra este antígeno es escasa y al respecto no existe ningún estudio en México y el resto de Latinoamérica (Sólorzano-Santos, Díaz-Ramós, & Arredondo-García, 1990).

---

### III. JUSTIFICACIÓN

El EGB, es un patógeno oportunista causante de una importante morbilidad y mortalidad neonatal en los EUA., Europa Occidental y Australia (Boyer & Gotoff, 1985; Schuchat & Wenger, 1994). En los recién nacidos, se manifiesta en forma de sepsis, neumonía y meningitis. Diversos estudios microbiológicos y de epidemiología molecular han demostrado que las poblaciones de EGB tienen un patrón clonal y que existen clonas con características genéticas y fenotípicas de mayor virulencia que parecen ser las responsables de la mayor parte de la patología perinatal (Takahashi, et al., 2002). Estudios previos han demostrado la existencia de este tipo de clonas virulentas de EGB en el centro de México (Palacios-Saucedo, et al., 2005), sin embargo, no existe información sobre el papel del EGB en la infección perinatal en el noreste del país. Estos estudios realizados en el centro del país, han encontrado porcentajes de colonización vaginal por EGB de hasta un 20% en mujeres embarazadas y una tasa de infección neonatal de  $\frac{1}{1,500}$  en recién nacidos vivos con una letalidad del 38.5% (Sólorzano-Santos, et al., 1989; Sólorzano-Santos, et al., 1990; Sólorzano-Santos, Díaz-Ramós, & Arredondo-García, 1990). Debido a esta razón, el estudio de la infección perinatal por EGB es de gran relevancia, ya que corresponde a dos de los problemas prioritarios en los centros de salud del noreste del país, como son: las muertes evitables (incluida muerte materna y perinatal) y enfermedades infecciosas, por lo que el conocimiento obtenido debe tener impacto en la toma de decisiones clínicas, sobre todo en lo que respecta a la realización o no de la búsqueda intencionada de colonización por EGB en toda mujer embarazada o sólo en aquellas con factores de riesgo perinatal, así como en cuanto al uso o no de quimioprofilaxis intraparto en México. Cabe mencionar que actualmente se desconoce cuál es el papel del EGB en la patología perinatal en México, en el área metropolitana de Monterrey y en todo el noreste de México, ya que la mayoría de la información disponible al respecto corresponde a los estados del centro.

---

#### **IV. HIPÓTESIS**

El serotipo I es el serotipo predominante en la infección perinatal por el Estreptococo del Grupo B, tanto en las mujeres embarazadas del noreste de México como en sus recién nacidos.

---

## **V. OBJETIVOS**

### **V.I Objetivo General**

Evaluar la epidemiología molecular e identificar los serotipos del Estreptococo del Grupo B en la infección perinatal en un hospital de tercer nivel de atención del Noreste de México.

### **V.II Objetivos Específicos**

- Determinar la tasa de colonización por el Estreptococo del grupo B (EGB) en las mujeres embarazadas.
- Determinar la tasa de transmisión del EGB de las mujeres embarazadas a sus recién nacidos.
- Identificar y evaluar la distribución de serotipos de EGB en mujeres embarazadas y sus recién nacidos.
- Analizar la distribución clonal de los aislados de Estreptococo del Grupo B de infección perinatal.
- Identificar los posibles factores predisponentes para una colonización por EGB.

## VI. MATERIAL Y METODOS

### ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



**Figura 5. Estrategia experimental.**  
Estrategia experimental a utilizar en el presente proyecto de

---

## 1. Diseño del estudio.

A las mujeres embarazadas entre las semanas 35 y 37 de gestación durante el periodo Agosto del 2016 a Julio del 2017 se les tomo una muestra del introito vaginal y periné hasta el margen anal, para corroborar la ausencia o presencia del *S. agalactiae*. Permitiendo así la evaluación de la prevalencia de la colonización por EGB en una población de mujeres embarazadas del noreste de México.

- **Etapa 1:** Se realizó la búsqueda del *S. agalactiae* en mujeres embarazadas, de las cuales 5 de ellas presentaron colonización por EGB, estas fueron seguidas hasta el nacimiento del producto. A los productos provenientes de madres colonizadas, se les tomó una muestra de faringe, periumbilical y rectal para determinar la presencia o no del EGB.

Todos los productos colonizados se consideraron como casos, para su posterior comparación con los recién nacidos no colonizados para evaluar de esta manera si existen factores socio-demográficos, heredofamiliares, gineco-obstétricos, genéticos y propios del microorganismo relacionados con el hecho de estar colonizados. Cabe mencionar que, hasta el momento, no se ha presentado colonización de los productos de las madres en quienes se detectó la presencia de EGB

- **Etapa 2:** Todos los recién nacidos de madres colonizadas fueron seguidos durante tres meses, con visitas mensuales y contacto telefónico, para evaluar el desarrollo o no de enfermedad por EGB, tales como meningitis, neumonía o
- **Etapa 3:** Todas las mujeres colonizadas fueron seguidas con evaluaciones clínicas durante el puerperio, en las mismas citas de evaluación para el recién nacido, esto para evaluar el desarrollo o no de enfermedades relacionadas a EGB tales como; endometritis post-cesárea, endometritis post-parto, infección de vías urinarias, entre otras.

---

Durante la realización de estos estudios se evaluó la frecuencia de serotipos, la distribución clonal de las poblaciones de EGB, además de los posibles factores predisponentes, como lo son los factores socio-demográficos, heredofamiliares, gineco-obstétricos, genéticos y propios del microorganismo que pudieran incrementar el riesgo de que dicho evento suceda; tanto para los aislados de EGB de las mujeres embarazadas, como de los recién nacidos incluidos.

La selección de las mujeres participantes se realizó a partir de las mujeres las cuales aceptaron participar en este estudio además de cumplir con los criterios de inclusión previamente mencionados. Las cuales firmaran una carta de consentimiento informado (anexo 1 y 2), además de completar un cuestionario con información clínica-epidemiológica relevante (anexo 3).

Los aspectos clínicos fueron evaluados por el responsable médico; siendo el manejo de la información de los mismos bajo consentimiento de los participantes para su análisis con la integración de los demás resultados de este estudio.

## **2. Lugar de trabajo.**

### **2.1 Toma de muestras clínicas.**

Unidad Médica de Alta Especialidad No. 23 Hospital de Ginecología y Obstetricia “Dr. Ignacio Morones Prieto” (UMAE 23) del Instituto Mexicano del Seguro Social en Monterrey, Nuevo León.

### **2.2 Procesamiento de la muestra.**

Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL). Laboratorio de Inmunología y Virología (LIV), en la Unidad de Infectología Molecular (UIMO).

---

### **3. Criterios de selección de la muestra.**

#### **3.1 Criterios de inclusión.**

- Mujeres entre las semanas 35 y 37 de gestación o que ingresen por trabajo de parto o por estar programadas para cesárea, sea electiva o de urgencia.
- Todos los recién nacidos o productos de madres colonizadas por *Estreptococo* del grupo B.

#### **3.2 Criterios de exclusión.**

- Mujeres embarazadas que se encuentre bajo tratamiento con antibióticos.
- Mujeres embarazadas que no deseen proporcionar su consentimiento informado.

#### **3.3 Criterios de eliminación.**

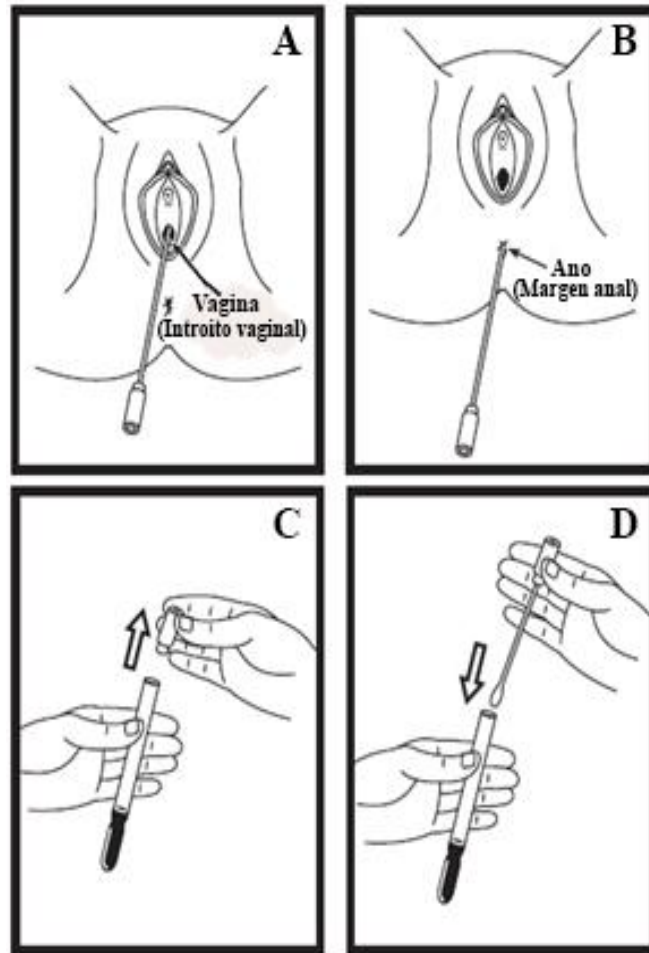
- Mujer embarazada que desee que ella y/o recién nacido, sea retirado del estudio.
- Pérdida del seguimiento por cualquier causa no relacionada con EGB, antes de que se complete el mismo, siempre y cuando no haya ocurrido el evento de interés. Esto para el caso de los tres estudios anidados.

### **4. Toma de muestra.**

#### **4.1 En la mujer embarazada.**

La muestra para el estudio se realizó en un solo tiempo, utilizando un hisopo de algodón, iniciando en el introito vaginal (A), para posteriormente deslizar el hisopo a través del periné hacia el margen anal (B), siendo esta tomada antes de cualquier manipulación de la vagina, sin higiene femenina previa, y sin el uso de antibióticos previos (Figura 6). Posteriormente el hisopo se colocó en el caldo LIM (Hardy Diagnostics<sup>®</sup>; Santa Maria, CA, EUA) (C y D) para su posterior procesamiento en el laboratorio.





**Figura 6. Toma de muestra vagino-rectal.**

**(A)** La toma de muestra se inicia en el introito vaginal. **(B)** En un solo movimiento se desciende al margen anal, **(C y D)** el hisopo de algodón se deposita en el medio de cultivo a utilizar.

Modificada de: National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Division of Bacterial Diseases.

#### **4.2 En el recién nacido.**

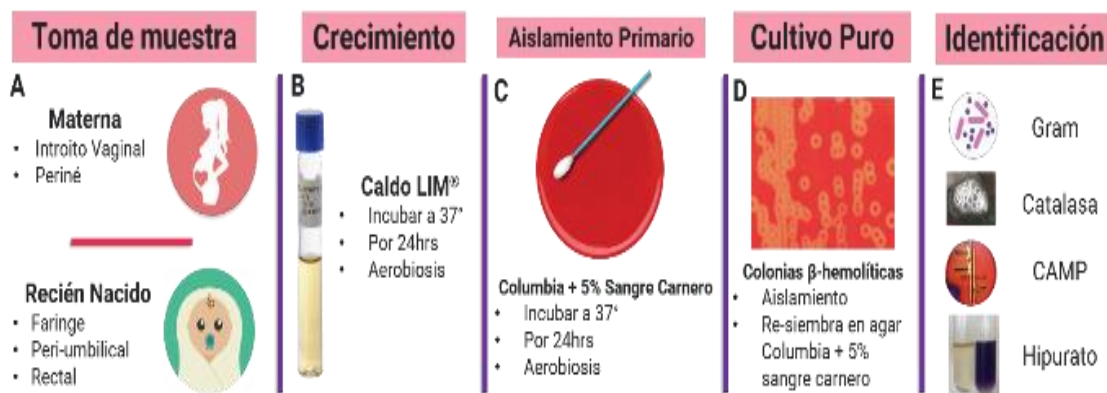
Despued de confirmar la colonización materna y dentro de las primeras 4 horas de nacimiento, se colectaron; 1 hisopado peri-umbilical, 1 hisopado rectal y 1 hisopado nasofaríngeo. Las muestras se colocaron en el caldo LIM (Hardy Diagnostics®, Santa Maria, CA, EUA) para su transporte en menos de 24 horas de tomada la muestra al Laboratorio de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, para su posterior procesamiento.

## 5. Procedimientos de laboratorio.

### 5.1 Aislamiento del *S. agalactiae*.

Las muestras clínicas (tanto de la madre como del recién nacido) (A) en el caldo LIM, se incubaron en un ambiente de aerobiosis por 24hrs a 37°C (B). Para la obtención de un aislamiento primario, transcurrido el tiempo de incubación, las muestras en el caldo LIM, las cuales haya presentaron un crecimiento (precipitado de color blanquecino), se sembraron en Agar Columbia (OXOID) enriquecido con sangre de carnero al 5%, incubándose bajo las condiciones previamente mencionadas(C).

A partir del crecimiento del aislamiento primario de las muestras (C), se seleccionó a las colonias grisáceas de 3 a 4 mm de diámetro, rodeadas de un halo estrecho de  $\beta$ -hemólisis, para su resiembra en Agar Columbia sangre de carnero al 5%, obteniendo así un cultivo puro (D) del presunto *S. agalactiae* para su identificación (E) (Figura 7).



**Figura 7. Proceso de toma de muestra y aislamiento.**

(A) La muestra de la madre y recién nacido es tomada con un hisopo de algodón. (B) Posteriormente estos hisopos son colocados en el medio de cultivo LIM para su incubación a 37°C por 24hrs, (C) **Para la realización de un cultivo primario**, una vez transcurrido el periodo de incubación, los hisopos del caldo LIM son re-sembrados en el Agar Columbia enriquecido con sangre de carnero. (D) Las colonias grisáceas  $\beta$ -hemolíticas son re-sembradas en el medio Columbia + 5% sangre de carnero para la obtención de un cultivo puro. (E) Una vez aislado el presunto *Streptococcus agalactiae*, se procede la realización de la identificación del mismo.

---

## 5.2 Identificación del *S. agalactiae*.

A partir del crecimiento en el cultivo puro (Figura 7D) se realizó las pruebas de catalasa, la tinción de Gram para reiterar la morfología microscópica y, por último, ya purificada la cepa se realizó la prueba de identificación: hidrólisis de hipurato, la prueba de CAMP, el crecimiento en el medio cromogénico, Strep B Carrot Broth™ Kit (Hardy Diagnostics®. Santa Maria, CA, EUA), además de la aglutinación de látex para identificación de grupo por medio del StrepPRO™ Streptococcal Grouping Kit (Hardy Diagnostics®. Santa Maria, CA, EUA).

Considerando como *S. agalactiae*, a los aislados que sean cocos Gram-positivos, catalasa negativos, hipurato positivos, además de presentar una prueba de CAMP positiva, una pigmentación naranja en el medio Strep B Carrot Broth™ Kit y una aglutinación positiva para el antígeno de grupo B, mediante el StrepPRO™ Streptococcal Grouping Kit.

### 5.2.1 Tinción de Gram

Esta tinción permite, de acuerdo con la estructura y grosor de la pared bacteriana, agrupar las bacterias en Gram positivas y Gram negativas, esta técnica involucra los siguientes pasos (Figura 8).

**Tinción inicial:** Las células se tiñen con **crystal violeta**, el cual es el colorante primario. En este paso todas las células se tiñen de una coloración morada.

- **Lavado.**

1. **Mordente:** Se adiciona **yoduro (Lugol)** que reacciona con el cristal violeta y formando un complejo cristal violeta-yoduro. En este punto todas las células continúan con una coloración violeta.

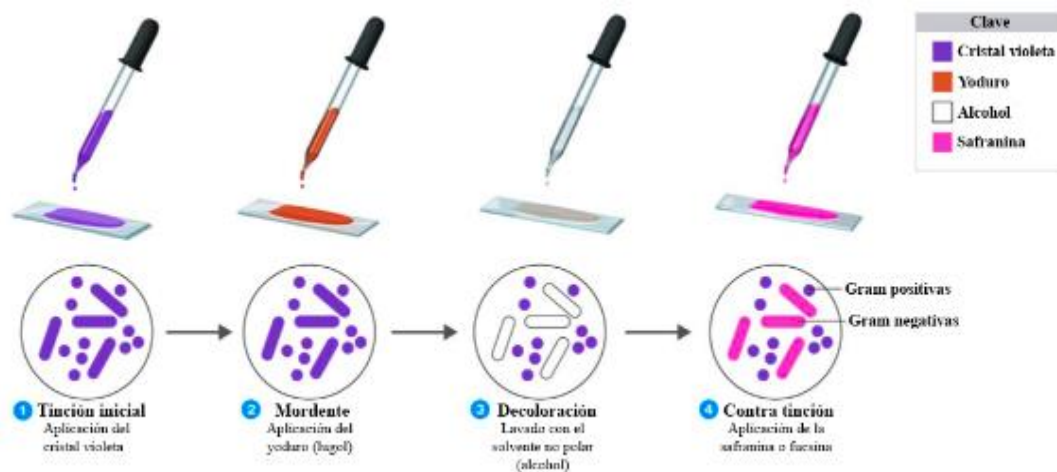
- **Lavado**

2. **Decoloración:** Se adiciona un **solvente no polar (alcohol)** el cual actúa lavando el complejo cristal violeta-yoduro de las células Gram negativas. De esta manera las bacterias Gram positivas continúan con una coloración morada, mientras que las Gram negativas pierden dicha coloración. Este es un paso crítico en esta tinción, pues si se excede en el solvente, se decolora a las bacterias Gram positivas, sin embargo, si se agrega una pequeña cantidad, las bacterias Gram negativas no se decolorarán.

- **Lavado.**

3. **Contra tinción:** Se realiza una segunda tinción, ahora con **safranina o fucsina**, de manera que las bacterias Gram negativas, las cuales habían sido decoloradas, se tiñan de una coloración rosada o fucsia, según el colorante empleado; las bacterias Gram positivas, no se verán afectadas con la contra tinción y permanecerán con una coloración morada.

▪ **Lavado.**



**Figura 8. Proceso de la tinción de Gram.**

(1) **Tinción inicial:** Una vez fijada la muestra, esta se tiñe con el colorante primario; cristal violeta. (2) **Mordente:** Después de realizado un lavado y secar el exceso de agua, se adiciona el yoduro (lugol). (3) **Decoloración:** Realizado el lavado y secado de la muestra se adiciona el solvente no polar (alcohol). (4) **Contra-tinción:** Por último, se realiza un lavado y secado de la muestra, para posteriormente ser teñida con safranina o fucsina. Modificada de: Pearson Education Inc. 2004

### 5.2.2 Prueba de catalasa

Esta prueba se realiza generalmente en portaobjetos (aunque también se puede realizar en tubo) y se utiliza principalmente para diferenciar entre los géneros *Streptococcus* (-) de *Micrococcus* (+) o de *Staphylococcus* (V+). Mediante el siguiente procedimiento.

- Con un asa bacteriológica, se recoge el centro de una colonia pura de un cultivo de 18 a 24hrs y se coloca sobre un portaobjetos de vidrio limpio.
- Se coloca una gota de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) al 30% en la muestra colocada en el portaobjetos, con un gotero o pipeta Pasteur.
- Observar la producción inmediata de burbujeo (liberación de gas), el cual indica una prueba positiva.

---

▪ **Interpretación:**

- **Positivo (+):** Burbujeo inmediato, observado con facilidad; formación de oxígeno (O<sub>2</sub>).
- **Negativo (-):** Ausencia de burbujas; ausencia de oxígeno (O<sub>2</sub>) (Figura 9).



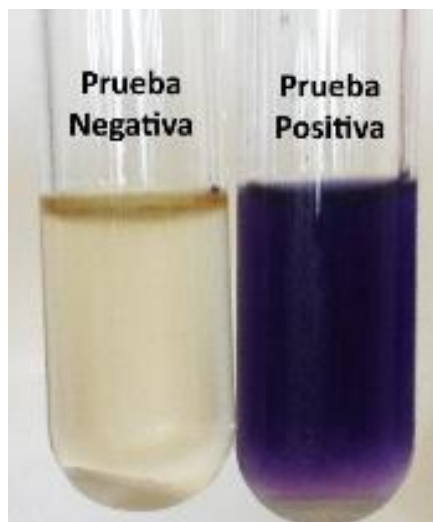
**Figura 9. Prueba de catalasa.**

En la imagen de la izquierda se puede observar el burbujeo inmediato debido a la formación de oxígeno (O<sub>2</sub>) del *S. aureus* ATCC 25923, siendo un resultado positivo a la prueba de catalasa. En la parte de la derecha no es posible observar ningún burbujeo, siendo un resultado negativo para la prueba de catalasa, ocasionado por el *S. agalactiae* ATT12403.

### 5.2.3 Prueba de hidrólisis del hipurato

De acuerdo a las instrucciones del fabricante en tubos de 13x100 con 200µl de agua bidestilada pH de 6.8-7.2, se adiciono un disco de hipurato de sodio al 1% (Dalynn®). Para posteriormente ser inoculado con una suspensión gruesa (aprox. una asada de 10µl) del microorganismo a identificar, una vez inoculados los tubos, estos se incubaron a 37° C durante 2 h; transcurrido el periodo de incubación, se adiciona seis gotas del reactivo de ninhidrina (Hardy Diagnostics®. Santa Maria, CA, EUA), transcurridos 10 min se observa la coloración del tubo.

Este método se basa en la producción de una enzima constitutiva conocida como hipuricasa que hidroliza el ácido hipúrico a glicina y ácido benzoico, la cual se pone de manifiesto con ninhidrina que reacciona con la glicina, se considerará una **prueba positiva** cuando se observe un color azul-morado y una **prueba negativa** cuando se observe una coloración café, o la ausencia de coloración (Figura 10).



**Figura 10. Prueba de hidrólisis del hipurato.**

En el tubo de la izquierda el *S. pyogenes* no presenta ninguna coloración después de agregar el reactivo de ninhidrina, en cambio el *S. agalactiae* en el tubo de la derecha se observa la aparición de un color púrpura profundo después del agregado del reactivo de ninhidrina el cual indica la presencia de glicina en la mezcla y un resultado positivo para la hidrólisis del hipurato

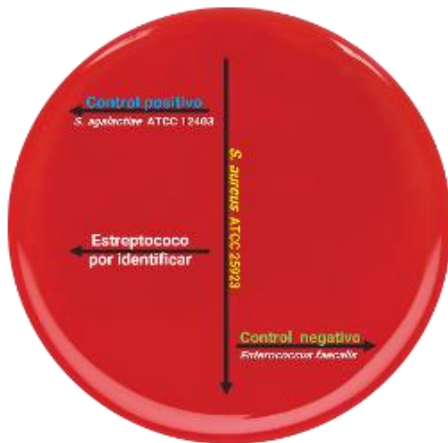
#### 5.2.4 Prueba de CAMP

Los estreptococos del grupo B (*S. agalactiae*) producen una sustancia extracelular denominada factor CAMP, una co-hemolisina intracelular que se acumula en la pared celular. Este factor actúa sinérgicamente con la toxina  $\beta$  producida por algunas cepas de *Staphylococcus aureus* de origen bovino. La  $\beta$ -hemolisina del *S. aureus* lisa la esfingomielina presente en la membrana de los eritrocitos bovinos u ovinos, sobre esta membrana alterada actúa el factor CAMP, formando un poro el cual causa la lisis de la célula, la cual es detectable macroscópicamente como un incremento de la hemólisis, la cual es mayor en la cercanía de la cepa de *S. aureus* y manifestándose por una zona de hemólisis en forma de punta de flecha.

- **Procedimiento:**

- En el centro de una placa de agar sangre, sembrar una sola estría en línea recta con un inóculo denso de *S. aureus* productor de  $\beta$ -hemolisina.
  - Teniendo cuidado de no tocar la estría del estafilococo, se realiza una estría en forma perpendicular con el estreptococo  $\beta$ -hemolítico por identificar (Figura 11).

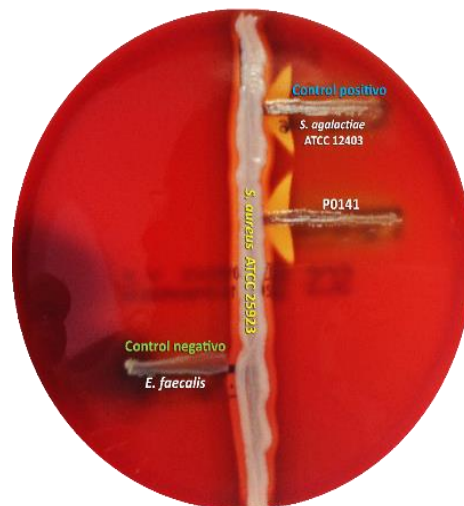
- Realizar estas estrías de tal manera que, después de la incubación el crecimiento de los dos microorganismos no se junte.
- La estría del estreptococo debe de ser de 3 a 4cm de longitud.
- En la misma placa se sembró una cepa del *Enterococcus faecalis* (Grupo D) como control negativo, y al *S. agalactiae* ATCC 12403 como control positivo.



**Figura 11. Esquema de estriado para la prueba de CAMP.** En el centro de la palca se realiza un estriado horizontal de la cepa del *S. aureus* (ATCC 25923)  $\beta$ -hemolítico. Tanto el control positivo (*S. agalactiae* ATCC 12403), como el control negativo (*E. faecalis*), y el Estreptococo por identificar, se siembra en forma perpendicular al estriado del *S. aureus*, teniendo en cuenta de no tocar la estría del estafilococo.

- Incubar la palca a 37°C, en aerobiosis de 18 a 24 h
- **Interpretación:**
- **Positivo:** La zona de aumento de la hemólisis se observa en el punto de intersección, de la  $\beta$ -hemolisina secretada por el estafilococo y el factor CAMP secretado por el estreptococo del grupo B.
- **Negativo:** No se observa un aumento en la zona de hemólisis (Figura 12).

**Figura 12. Resultado de la prueba de CAMP.** En la parte superior se observa la zona de aumento de la hemólisis, causada por  $\beta$ -hemolisina secretada por el *S. aureus* ATCC 25923 y el factor CAMP secretado por el *S. agalactiae* ATCC 12403, este resultado también es observable en el crecimiento mostrado por el aislado P0141. De manera cotraria el *E. faecalis*



---

### 5.2.5 Aglutinación en látex por medio del StrepPRO™ Streptococcal Grouping Kit

Hardy Diagnostics StrepPRO™ Grouping Kit proporciona un método rápido de aglutinación de látex para la identificación serológica de los grupos A, B, C, D, F y G de Lancefield a partir de colonias aisladas de *Streptococcus* spp  $\beta$ -hemolítico y *Enterococcus faecalis*.

#### Procedimiento:

1. Los reactivos se dejan atemperar por 10 min antes de su utilización.
2. Por cada Estreptococo a analizar se etiqueta un tubo de 12x75 mm.
3. A cada tubo se le agrega una gota del reactivo de extracción 1.
4. Con el asa bacteriológica se toma de 1-4 colonias  $\beta$ -hemolíticas y se colocan en el reactivo de extracción 1.
5. Posteriormente se agrega una gota del reactivo de extracción 2.
6. La reacción se mezcla agitando ligeramente el tubo por 10 s
7. Se agrega a cada tubo 5 gotas del reactivo de extracción 3, agitando de la manera previamente mencionada.
8. Antes de usar los reactivos de látex azules se agitan por inversión, añadiendo una gota a cada círculo en la tarjeta de prueba.
9. Con una pipeta Pasteur se coloca una gota de la suspensión de la colonia bacteriana + el reactivo de extracción, a lado de la gota de la suspensión de látex.
10. Con un aplicador de madera se mezclan la colonia bacteriana + los reactivos de extracción y la suspensión de látex.
11. Agite suavemente la tarjeta entera, permitiendo que la mezcla fluya lentamente dentro del área del círculo de la tarjeta.
12. En un minuto, bajo condiciones normales de iluminación, se busca la aglutinación de las partículas de látex.



- **Interpretación:**

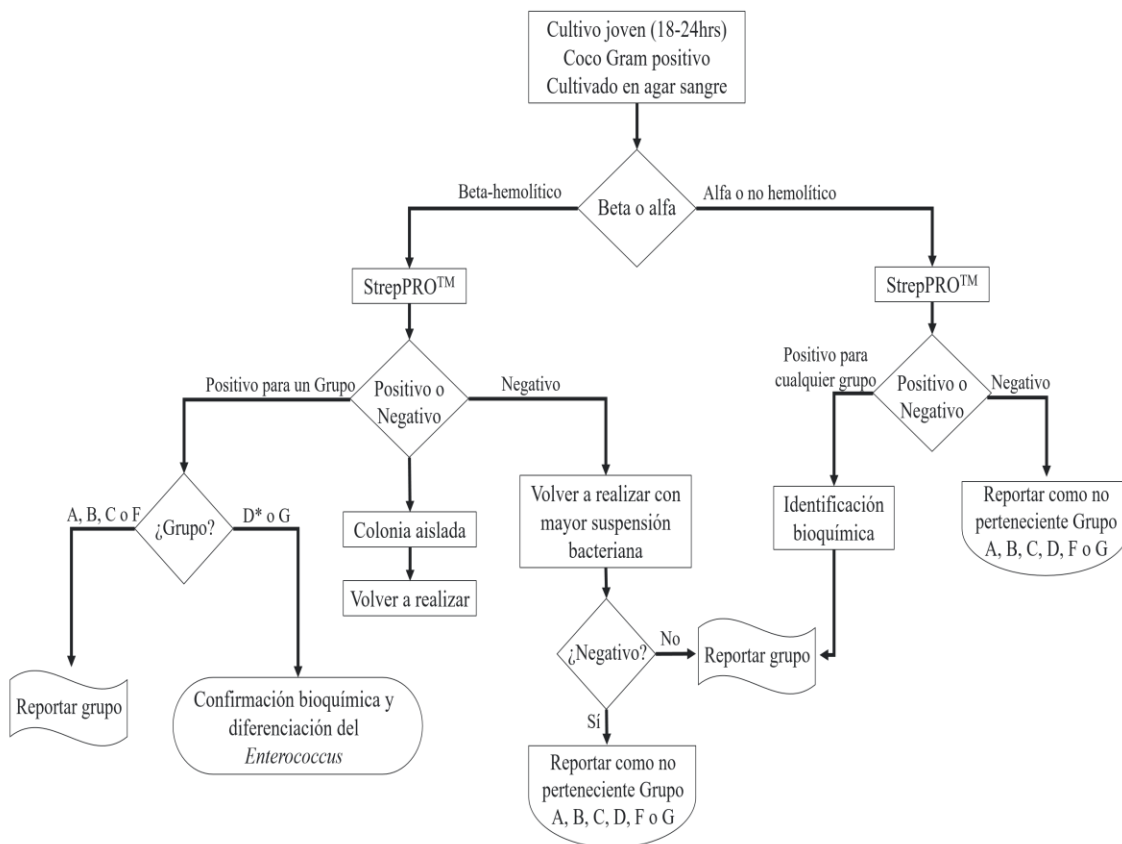
• **Positivos:**

Una aglutinación rápida y significativamente fuerte de las partículas de látex, la aglutinación, en uno de los reactivos de látex indica una identificación del aislado estreptocócico para el grupo de Lancefield.

Una reacción débil con un único reactivo de látex azul debe repetirse usando un inóculo más significativo. La prueba repetida se considera positiva si se produce una aglutinación visible con solo uno de los reactivos de látex (Figura 13).

• **Negativos:**

Ninguna aglutinación visible de las partículas de látex indica una reacción negativa para el grupo particular de Lancefield.



\*Algunas cepas del grupo D han mostrado una reacción cruzada con el antisuero del grupo G

**Figura 13. Esquema de StrepPRO™ Streptococcal Grouping Kit.**

En este esquema se muestra los pasos a seguir para la identificación del grupo para los diferentes Estreptococos..

---

### 5.2.6 Crecimiento en el medio Strep B Carrot Broth™ Kit

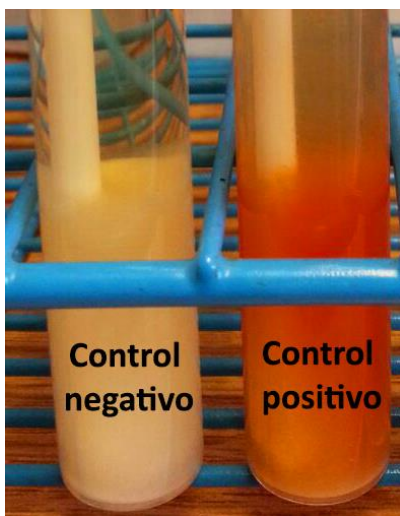
Para la identificación cualitativa, se utilizó la característica única de los EGB hemolíticos de producir un pigmento que va de un naranja claro a un naranja rojizo, resultado de la reacción del microorganismo con substratos como; el almidón, la peptona, suero e inhibidores de la vía del folato (Islam, 1977).

El Strep B Carrot Broth™ Kit contiene los componentes necesarios para la detección de la pigmentación de los EGB  $\beta$ -hemolíticos, ya que el Strep B Carrot Broth™ contiene; la peptona, el almidón y los buffers necesarios, mientras que las Tirillas Strep B Carrot Broth™, contienen los factores de enriquecimiento necesarios para el crecimiento y la producción de pigmentación del EGB.

#### - Procedimiento

1. Una vez aislado el microorganismo a identificar, tanto la placa de Agar Columbia sangre de carnero 5%, como el medio y las tirillas Strep B Carrot Broth™, se dejan equilibrar a temperatura ambiente.
2. Posteriormente utilizando unas pinzas estériles se introduce la Tirilla Strep B Carrot Broth™ (Z140B, Z144B, Z146B, o Z140T), a un tubo de medio Strep B Carrot Broth™ (Z140A, Z144A, o Z146A). Asegurando que las tirillas se encuentren totalmente sumergidas en el medio. Para la optimización del medio se deben de introducir las tirillas antes de la inoculación del medio.
3. Una vez que la tirilla se encuentre sumergida en el tubo Strep B Carrot Broth™, este se inocula con un hisopo de algodón el cual contenga de 2-3 asadas de un cultivo joven del microorganismo a analizar. El medio no se debe de agitar o llevar al vórtex para homogenizar.
4. La parte que sobresale del hisopo se cortó para poder colocar la tapa devuelta en el tubo.
5. El Strep B Carrot Broth™ inoculado se incubo a 37°C por 16 h.
6. Después de transcurrido las 16 h se analizó los tubos en búsqueda de la coloración naranja, el cual denota un resultado positivo para el EGB (Figura 14).

- 
7. Cuando no se observó una coloración naranja, el tubo se re-incubo hasta completar las 24 h .Si después de transcurridas las 24 h no se presentó una coloración el hisopo se cultivó en agar GBS Detect™ (Hardy Diagnostics®; Santa María, CA, EUA), el cual es un medio especializado para las cepas no hemolíticas del EGB.



**Figura 14. Crecimiento del *S. agalactiae* en el medio Strep B Carrot Broth™.**

Para esta prueba se usó como control negativo una cepa clínica de *Streptococcus pyogenes*, el cual, si bien presenta crecimiento en el medio, este no ocasiona un cambio en la coloración. Como control positivo se utilizó la cepa del *S. agalactiae* ATCC 12403, en esta prueba no solamente se observa el crecimiento del microorganismo, también se puede apreciar el cambio en la coloración del medio, de un color blanco a un color naranja.

### **5.3 Determinación del serotipo mediante el kit ImmuLex™ STREP-B**

A los aislados confirmados como *S. agalactiae* se les realizó la identificación del serotipo, mediante la aglutinación de látex, utilizando el kit ImmuLex™ STREP-B (Statens Serum Institut, Copenhagen S, Dinamarca), el cual permite la identificación de todos los serotipos de EGB actualmente identificados (Ia, Ib - IX).

Todos los anticuerpos contra el antígeno capsular de grupo presentes suspensión de látex fueron realizados en conejos.

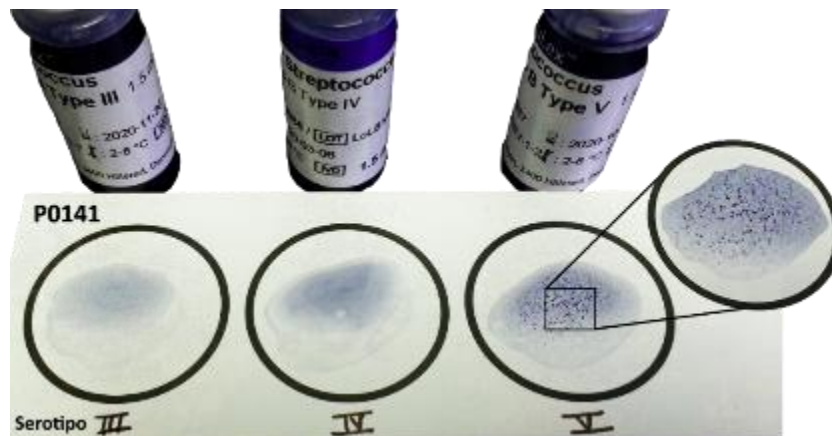
#### **- Procedimiento**

\*No se debe de realizar más de tres reacciones al mismo tiempo.

- 
1. Para la serotipificación se utiliza un cultivo de una noche en caldo Todd-Hewitt, o una placa de Agar Columbia sangre de carnero 5%.
  2. Antes de realizar la reacción es importante dejar a temperatura ambiente tanto los reactivos como los cultivos a utilizar.
  3. En cada tarjeta de reacción se coloca una gota de la suspensión de partículas de látex (aprox. 10µl), apretando suavemente el frasco.
  4. **Cultivo en caldo Todd-Hewitt:** Colocar una gota (aprox. 10µl) de la suspensión bacteriana, a un lado de la suspensión de partículas de látex.

**Cultivo en placa de Agar Sangre 5-10%:** Se coloca 10 µl de solución salina a un lado de la suspensión de látex, posterior mente se re-suspende una colonia de la placa de agar sangre en la gota de solución salina. Es importante no colocar un gran inculo porque esto puede dar como resultado, falsos positivos.

5. Posteriormente se mezclan las dos gotas con un aplicador de plástico. Utilizando un aplicador nuevo en cada reacción.
6. Una vez mezcladas las dos gotas se mueve lentamente la tarjeta de reacción en búsqueda de aglutinación, la cual es observable dentro de 5-10 s. Cualquier aglutinación que se observe una vez transcurrido más de 30 s se toma como un resultado negativo (Figura 15).



**Figura 15. Determinación del serotipo mediante el kit ImmuLex™ STREP-B.**  
 Se observa la ausencia de aglutinación en la suspensión de partículas de látex pertenecientes a los serotipos III y IV, lo cual nos indica que la muestra probada no pertenece a estos serotipos, de manera contraria, es posible observar la aglutinación en las partículas de látex pertenecientes al serotipo V, lo que nos indica la pertenencia del aislado en dicho serotipo.

#### 5.4 Análisis de tipos clonales del *Streptococcus agalactiae*

Después de la identificación y serotipificación, los aislados fueron evaluados para su distribución clonal, utilizando la técnica de **Electroforesis en Gel de Campos Pulsados** (PFGE). En este método, el ADN viaja a través de un gel de agarosa concentrado, bajo la influencia de dos campos eléctricos. Los dos ángulos de los campos eléctricos se encuentran cerca a la perpendicularidad, no son uniformes en la intensidad de campo y cambian de manera alterna (pulsos). En concentraciones altas de agarosa y con tensiones elevadas, las moléculas grandes de ADN son elongadas a lo largo de la dirección del campo eléctrico con el fin de penetrar a través de los poros del gel. Cuanto más grande sea la molécula de ADN, mayor será el tiempo para encontrar la nueva orientación y la retención en el gel (Southern et al. 1987).

Para poder llevar a cabo dicha técnica, se realizó la creación del protocolo adecuado para el *S. agalactiae*, dicho protocolo se elaboró en colaboración con el Dr. Jesus Silva Sánchez, jefe del Grupo de Resistencia Bacteriana del Instituto Nacional de Salud Pública (Cuernavaca, Morelia), la Dra. y el Quím. Alejandro Sanchez Perez (Instituto Nacional de Salud Pública) (anexo 4).

---

### **5.5 Análisis estadístico**

Para evaluar la magnitud de la asociación de las diferentes variables predictores con las variables resultado (colonización de la mujer embarazada o del recién nacido, colonización con ciertos tipos clónales, etc.) se midió la razón de momios con sus límites de confianza al 95%, utilizando el paquete estadístico SPSS en su versión 20. Considerando como significativo un valor de  $p < 0.05$ .

---

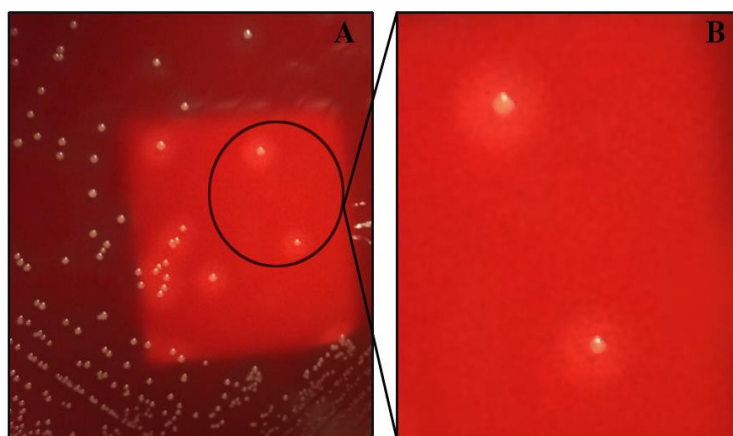
## VII. RESULTADOS

Para la realización de este estudio, se colectaron 221 muestras vagino-rectales en un periodo de agosto del 2016 a julio del 2017, las pacientes muestreadas se encontraron entre las semanas 34-37 de embarazo. Las muestras se tomaron como un servicio adicional a la consulta ginecobstetricia impartida por la UMAE No.23. Hospital de Ginecología y Obstetricia del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). A las mujeres embarazadas las cuales acudieron a la UMAE No. 23 dentro del periodo mencionado se les impartió una plática informativa sobre el protocolo del proyecto, a las mujeres interesadas en participar en el protocolo firmaron un consentimiento informado aprobado por la Comisión Nacional de Investigación Científica, con el número de registro R-2014-785-069.

### 1. Determinar la tasa de colonización por el Estreptococo del Grupo B (EGB) en mujeres embarazadas.

#### 1.1 Aislamiento e identificación del Estreptococo del grupo B (EGB) en mujeres embarazadas.

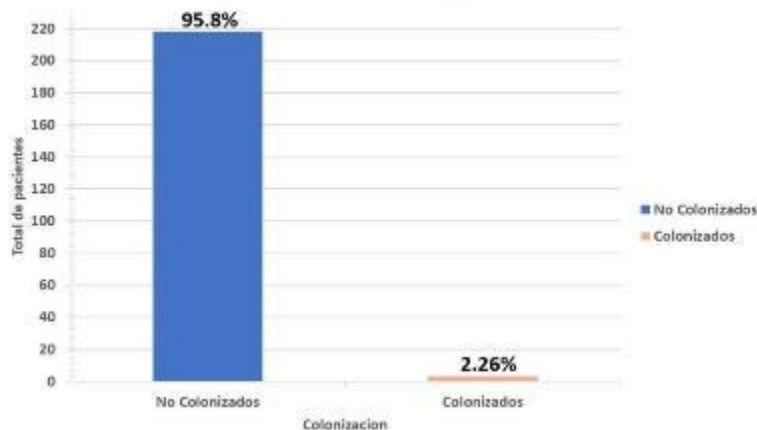
Para el aislamiento de este microorganismo se sembró las muestras en Agar Columbia (OXOID®) + 5% de sangre de carnero en busca de colonias blancas-transparentes,  $\beta$ -hemolíticas (Figura 16a y b). De las 221 mujeres muestreadas, 5 de ellas se encontraron colonizadas por el *Streptococcus agalactiae*.



**Figura 16. *S. agalactiae* en agar Columbia + 5% sangre de carnero.**  
(A) Colonias de *S. agalactiae* en agar Columbia + 5% sangre de carnero, en incubación a 37°C por 24 h. (B) Colonias de *S. agalactiae* de 2-3 mm, blancas, con su característica  $\beta$ -hemolisis.

## 1.2 Determinar la prevalencia del Estreptococo del grupo B (EGB) tanto en mujeres embarazadas como en sus recién nacidos.

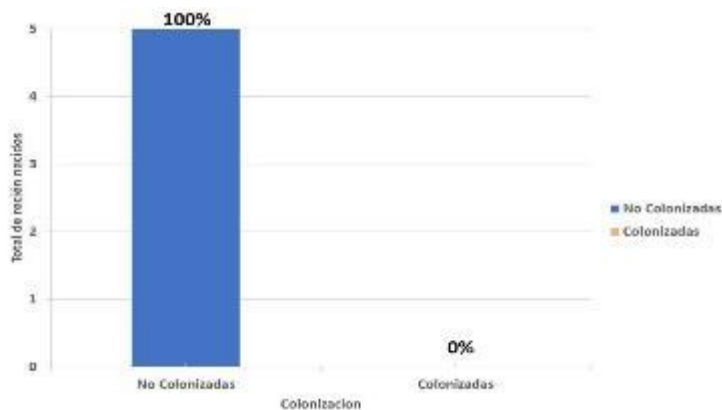
De los aislados vagino-rectales colectados de 221 mujeres embarazadas entre las semanas 35-37 de embarazo, 5 de ellas presentaron un resultado positivo para la colonización por el *S. agalactiae*, dando como resultado una prevalencia del 2.26% ( $5/221$ ) (Figura 17).



**Figura 17. Tasa de colonización en la población de mujeres embarazadas.** El 95.8% ( $216/221$ ) de la población estudiada no presentó colonización por el *S. agalactiae*, el cual solo se presentó en el 2.26% de la población muestreada ( $5/221$ ).

## 2. Determinar la tasa de transmisión del EGB de las mujeres embarazadas a sus recién nacidos.

En cuanto a los recién nacidos de las mujeres embarazadas colonizadas por EGB no se logró identificar la presencia de dicho microorganismo, estimando una prevalencia de colonización del 0% (Figura 18). Sin la existencia de transmisión materno-infantil (0%).



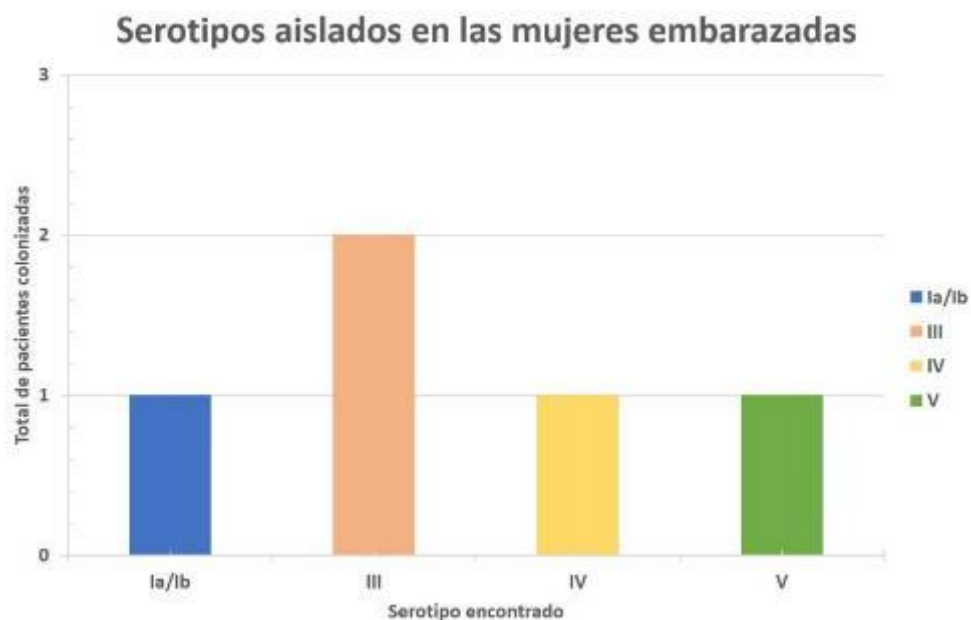
**Figura 18. Tasa de colonización en la población de recién nacidos.**

Del 2.26% de la población ( $5/221$ ) positiva para una colonización por el *S. agalactiae*, los recién nacidos provenientes de estos partos (5) no resultaron colonizados por este microorganismo.



### 3. Identificar y evaluar la distribución de los serotipos del EGB en mujeres embarazadas y sus recién nacidos.

Una vez aislado y caracterizado como EGB, a las cepas aisladas de las pacientes colonizadas, se les realizó la serotipificación mediante el Kit de aglutinación en látex Strep B Latex (Staten Serum Institute). Los serotipos encontrados fueron; el serotipo Ia/Ib (1/221), el serotipo III (2/221), el serotipo IV (1/221) y el serotipo V (1/221) (Figura 19), siendo posible la tipificación de la totalidad de los aislados. En contraste los serotipos II, III, VI, VII, VIII y IX no fueron encontrados en la población estudiada.



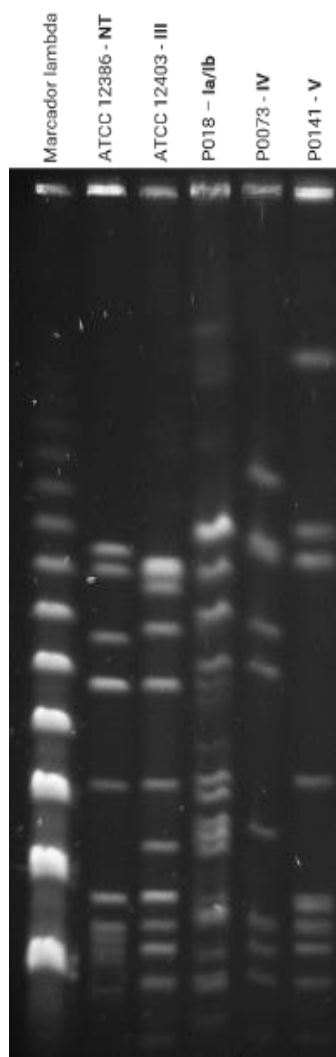
**Figura 19. Serotipos aislados en la población de mujeres embarazadas.**

De las cinco pacientes colonizadas, fue posible la tipificación de la totalidad de los aislados, encontrando al serotipo Ia/Ib (azul), el serotipo III (naranja), el serotipo IV (amarillo), y el serotipo V (verde).

#### 4. Evaluar la existencia de clones de EGB en mujeres embarazadas y sus recién nacidos.

Mediante los patrones de digestión de endonucleasas de restricción (REDP) es posible observar la diferencia en el número y posición entre los serotipos aislados. Para esto se realizó la Electroforesis en Gel de Campos Pulsados (PFGE), a los aislados ATCC 12386, ATCC 12403 (serotipo III), utilizados como control; además de incluir a los cuatro serotipos aislados.

Mediante los criterios de Tenover et al., (1995) se puede deducir que los aislados pertenecientes a los serotipos; Ia/Ib, el serotipo III, el serotipo IV y el serotipo V, no se encuentran relacionados entre sí (Figura 20).



**Figura 20. Patrón electroforético de los serotipos encontrados mediante la técnica de Electroforesis en Gel de Campos Pulsados (PFGE).**

Gel de Agarosa al 1% corrido por 23 h a 14°C, con 6.0 V/cm, utilizando un intervalo de tiempo entre pulsos inicial de 3s y final de 55s; ángulo de 120°. **Carril 1**, marcador lambda. **Carril 2**, *S. agalactiae* ATCC 12386. **Carril 3**, *S. agalactiae* ATCC 12403 (serotipo III). **Carril 4**, serotipo 1a/1b (P018).

## 5. Identificar los posibles factores predisponentes para la colonización por EGB.

La identificación de factores predisponentes y su relación con una posible colonización materna, se realizó un cuestionario de antecedentes socio-demográficos, gineco-obstétricos y heredo-familiares. Con base a esto, fue posible observar que las pacientes colonizadas se encontraron entre los 20 y los 34 años de edad, además de encontrarse dentro de un estrato socio-económico de pobreza relativa, cabe mencionar que estas poseían un historial de infecciones urinarias previas ().

**Tabla 2. Características sociodemográficas y gineco-obstétricas**

	Colonización con EGB		
	Total (n=222)	Sí (n=5)	No (n=217)
<b>Edad (años)</b>	26 (14-39)	24 (21-31)	27 (14-39)
≤19 años	16 (07.2%)	-	16
20-24 años	63 (28.4%)	3	60
25-29 años	68 (30.6%)	1	67
30-34 años	46 (20.7%)	1	45
35-39 años	24 (10.8%)	-	24
<b>Nivel socioeconómico</b>			
Alto	5 (2.3%)	-	5
Medio-Alto	26 (11.8%)	1	25
Medio-Medio	108 (48.9%)	1	107
Pobreza relativa	77 (34.8%)	3	74
Pobreza crítica	-	-	-
<b>No. de gestas</b>			
1	65 (29.4%)	3	62
2	63 (28.5%)	-	63
3	50 (22.6%)	1	49
4 +	22 (9.9%)	1	21
<b>Infección urinaria previa</b>	105 (47.5%)	2	103
<b>Infección urinaria actual</b>	30 (13.6%)	1	68
<b>Obesidad</b>	36 (16.3%)	1	35
<b>Diabetes mellitus tipo 2</b>	8 (3.6%)	-	8
<b>Diabetes gestacional</b>	39 (17.6%)	-	39

La mayoría de las mujeres colonizadas por EGB, tuvieron entre 20-24 años de edad, perteneciendo a un nivel socio-económico de pobreza relativa, además de presentar un historial de infección.

De las pacientes colonizadas por el EGB la mayoría ( $3/5$ ) se encontraba en su primera gesta, siendo la vía de nacimiento la vaginal y teniendo un parto eutócico, sin rompimiento prematuro de las membranas, además de que ninguno de los recién nacidos presentó asfixia al nacer (Tabla 3).

**Tabla 3. Características clínicas y obstétricas**

No.	Edad (años)	Antec. HF	IVU	Gesta	Parto	Tipo de parto	RPM	Asfixia al nacer	Serotipo de EGB
18	25	HAS	No	1	Vaginal	Eutócico	No	No	Ia/b
73	22	DM 2	No	1	Vaginal	Eutócico	No	No	IV
141	21	DM 2	No	1	Vaginal	Eutócico	No	No	V
204	31	No	No	4	Cesárea	-	No	No	III
210	24	No	Si	3	Vaginal	-	-	-	III

IVU: Infección de vías urinarias; RPM: Ruptura prematura de membranas.

De las cinco mujeres embarazadas colonizadas por el Estreptococo del Grupo B (EGB) del presente estudio.

Cabe mencionar que en el seguimiento a 3 meses no se identificó complicación infecciosa tanto en las madres colonizadas, como en sus recién nacidos.

---

## VIII. DISCUSIÓN

Además de ser el causante principal en la infección neonatal, el *Streptococcus agalactiae*, ocasiona una alta morbilidad en mujeres embarazadas y personas adultas; presentando un alto índice de mortalidad en pacientes inmunocomprometidos (Dermer, Lee, Eggert , & Few, 2004). No obstante, este microorganismo comúnmente coloniza los tractos gastrointestinal y genitourinario de aproximadamente el 40% de la población femenina y el 30% de la población masculina (Diseases, 2006; Bliss, et al., 2002). Sin dilucidarse hasta el momento la relación entre el estado del portador sano y el que desarrolla la enfermedad. Teniendo en cuenta de forma incompleta en términos de la importancia de la densidad de colonización, la diversidad de virulencia entre los clones de EGB y los mecanismos de susceptibilidad a la infección de algunos individuos. Especialmente en México, en donde se le considera una causa poco frecuente de infección perinatal (Sólorzano-Santos, et al., 1989; Sólorzano-Santos, Díaz-Ramós, & Arredondo-García, 1990; González-Pedraza, Ortiz-Zaragoza, Madrigal de Leon, Corzo-Coello, & Flores-Huitron, 2004; Palacios-Saucedo, 2009). Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado, todas las muestras clínicas (tanto de la madre como del recién nacido) se resembraron en Agar Columbia enriquecido con sangre de carnero al 5%, como primer paso en el entendimiento del comportamiento de este microorganismo.

Si bien este microorganismo se ha identificado como un factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad neonatal (Stoll, et al., 2011; Le Doare & Heath, 2013), la mayoría de los datos sobre la colonización materna por el Streptococcus del grupo B a lo largo de los años proviene de Europa y Estados Unidos. Mediante la utilización del medio Columbia enriquecido, en una población de 221 mujeres embarazadas del Noreste de México, en un periodo de un año este estudio revelo una colonización del 2.26% ( $\frac{5}{221}$ ) (Figura 17).

Cifra es considerablemente menor, a las previamente reportadas en diversos estudios realizados en el centro del país, 8.6% (Ocampo-Torres, Sánchez-Pérez, Nazar-Beuelpacher, Castro-Ramírez, & Cordero-Ocampo, 2000), 14% (González, Ortiz, & Mota, 2002), 13% (Villaseñor-Sierra, Morales-Velázquez, Palacios-Saucedo, & Solórzano-Santos, 2004), 20.54% (González-Pedraza, Ortiz-Zaragoza, Madrigal de Leon, Corzo-Coello, & Flores-Huitron, 2004), 38.7% (Hernández & Soriano, 2006); esto contrasta con la prevalencia de

---

casi el doble (20%) reportada en Estados Unidos (Dillon , Khare, & Gray, 1987) y en otros países de Latinoamérica como Brasil, en donde diversos estudios han mostrado diferentes tasas de colonización por este (24.3%, 21.6%, 17.9%, 27.6%) (Tavolaro S, et al., 2013; Pogere, et al., 2005; Zusman, Baltimore, & Fonseca S, 2006; Nomura, Júnior, & Oliveira, 2006). Esta diferencia entre la tasa de colonización obtenida en este estudio (2.26%), en comparación no solo con investigaciones previas realizadas en nuestro país y en la literatura, se puede deber a diversos factores geográficos, étnicos y socioeconómicos pueden influir en las tasas de transporte, las diferencias en las técnicas de muestreo y cultivo del mismo. Sin excluir las diferencias en las características de la población estudiada (como edad, paridad, prácticas sexuales, ubicación geográfica) y los factores ambientales, como la higiene y la nutrición; los antecedentes genéticos y socioculturales de la población muestreada en comparación con los estudios previamente mencionados (Sharmila, Joseph, Arun , Chaturvedula, & Sistla, 2011).

Las investigaciones realizadas por Collado et al., 4% (Collado, et al., 1981), 4.8% (Narcio, Solórzano, Arredondo, Calderon, & Beltrán, 1989) y Romero *et al.*, 0.46% se podrían considerar como los resultados más cercanos al obtenido en esta investigación, lo cual nos permite suponer que basados en los reportes previamente mencionados la población femenina en México tiene una baja tasa de colonización por el EGB (Romero, Pacheco, García, & Horna, 2005). Cabe mencionar que la población estudiada en los trabajos realizados en México pertenece al centro del país, según nuestro conocimiento, este es el primer estudio realizado en el norte, lo cual puede contribuir a la variación de dicha tasa de colonización.

La recolección de muestras para el estudio se realizó entre la edad gestacional a partir de la semana 35, debido a que el Centro para el Control de Enfermedades (CDC) (Verani, McGee, & Schrag, 2010) menciona que existe un riesgo mayor de transmisión vertical en dicho periodo. Si bien la colonización de mujeres embarazadas al inicio del periodo gestacional es factible, esta no tiene valor predictivo con respecto a la infección neonatal, ya que se considera que la colonización por el EGB puede ser transitoria, además que es relevante conocer la frecuencia de colonización en el periodo cercano al nacimiento (Kruk, Feuerschueteb, Silveira, Cordazo, & Trapani Júnior, 2013).

---

En el presente estudio en los recién nacidos de las cinco pacientes embarazadas colonizadas, no se logró identificar la presencia de dicho microorganismo, estimando una prevalencia de colonización del 0% (figura 18). Sin la existencia de transmisión materno-infantil (0%). De igual manera en el seguimiento a 3 meses no se identificó complicación infecciosa en madres colonizadas y sus recién nacidos.

Si bien diversos reportes estiman que entre un 20 - 30% de todas las mujeres embarazadas son portadoras de EGB, (Boyer, et al., 1983; Yancey, Schuchat, Brown, Ventura, & Markenson, 1996), no todas transmiten al EGB; ya que solo un recién nacido se presentará con infección por EGB de entre 100-200 madres colonizadas por este (Javanmanesh & Eshraghi, 2013). Aunque en México aún no existen estudios multicéntricos realizados bajo los mismos criterios metodológicos que permitan tener un panorama real de la prevalencia de transmisión materno-infantil del estreptococo del grupo B, la consistencia en la baja frecuencia de aislamiento de *S. agalactiae* en mujeres embarazadas en estudios previos y en el presente, podría explicar la tasa de transmisión vertical inexistente en dicho estudio, sin embargo el estudio de un mayor grupo es recomendable para entender mejor la situación de este microorganismo en el recién nacido.

La tasa de colonización del estreptococo del grupo B, no es la única diferencia encontrada entre el estudio realizado y los reportes de este microorganismo en nuestro país, ya que diversos autores identifican a los serotipos I, II y III como los serotipos aislados más comúnmente. Siendo el serotipo I el predominante en nuestro país, con un aumento en los aislados pertenecientes al serotipo III.

En el presente estudio se aisló el serotipo Ia/Ib (1%), el serotipo IV (1%) y el serotipo V (1%) (gráfica 2), aunque la presencia del serotipo Ia/Ib concuerda hasta cierta manera con lo reportado previamente en la literatura, la aparición de los serotipos IV y V en nuestro país no había sido previamente reportada, siendo estos relacionados frecuentemente con individuos de edad avanzada y adultos no embarazados con enfermedades pre-existentes.

La genotipificación de los aislados mediante PFGE, nos permite examinar la dinámica de la colonización por el EGB en este estudio.

---

Los aislados se compararon mediante PFGE usando la endonucleasa de restricción SmaI. Los aislados pertenecientes al serotipo Ia/IB (P018) al serotipo IV (P073) y al serotipo V (P141) (figura 15) según los criterios de Tenover et al. (1995) no se encuentran relacionados entre sí, debido a las diferencias entre el número y posición de las bandas. Debido a que el número de aislados estudiados mediante PFGE es pequeño, la representatividad de los aislados seleccionados son inconcluyentes para una estimación correcta de la diversidad clonal en la población del noreste del país, no obstante, este estudio demuestra hasta cierto punto, que las clonas obtenidas de diferentes individuos son mayormente distintas entre sí, lo cual concuerda con lo reportado por Rolland et al., (1999).



---

## IX. CONCLUSIONES

- En este estudio se demostró la presencia de colonización por EGB en 5 de las 221 mujeres embarazadas estudiadas.
- Se determinó una baja prevalencia de colonización por el EGB.
- Fue posible el aislamiento de los serotipos III, IV y V
- El protocolo propuesto para la realización de la electroforesis en gel de campo pulsado fue el apropiado, ya que es posible diferenciar el patrón de bandas de los tres serotipos diferentes de las cepas aisladas.

---

## **X. PERSPECTIVAS**

- Se recomienda realizar un continuo muestreo de este microorganismo para de esta manera incrementar el número de muestras colectadas y así poder conocer la variabilidad real de la distribución de los serotipos en el norte de México
- Realizar la determinación de la respuesta inmune tanto en las mujeres colonizadas por EGB, como en las no colonizadas.
- Identificación de los factores de virulencia de los aislados obtenidos.
- Realización del estudio de clonas virulentas del EGB en una población de mujeres embarazadas del Noreste de México.

---

## XI. BIBLIOGRAFIA

- Allen, U., Nimrod, C., MacDonald, N., Toye, B., Stephens, D., & Marchessault, V. (1999). Relationship between antenatal group B streptococcal vaginal colonization and premature labour. *Paediatr Child Health*, 4(7), 465-469.
- Baker, C. J. (2000). Group B streptococcal infections. In Streptococcal Infections. In D. L. Stevens, & E. L. Kaplan (Eds.), *In Streptococcal Infections*. New York: Oxford University Press.
- Baker, C. J., & Barret, F. F. (1974). Group B Streptococcal Infections in Infants: The Importance of the Various Serotypes. *JAMA*, 230(8), 1158-1160. doi:10.1001/jama.1974.03240080040025
- Baker, C. J., & Edwards, M. S. (1995). Group B streptococcal infections. In W. Saunders (Ed.), *Infectious diseases of the fetus and newborn infant* (4th ed., pp. 980-1054). Philadelphia: J.S Remington y J.O Klein.
- Baker, C. J., Barret, F. F., Gordon, R. C., & Yow, M. D. (1973). Suppurative meningitis due to streptococcus of Lancefield group B: a study of 33 infants. *J Pediatr*, 82, 724-729.
- Baker, C. J., Edwards, M. S., & Kasper, D. L. (1981). Role of antibody to native type III polysaccharide of group B Streptococcus in infant infection. *Pediatrics*, 68, 544-549.
- Bellais, S., Six, A., Fouet, A., Longo, M., Dmyruk, N., Glaser, P., . . . Poyart, C. (2012). Capsular switching in group B Streptococcus CC17 hypervirulent clone: a future challenge for polysaccharide vaccine development. *J Infect Dis*, 206(11), 1745-1752. doi:10.1093/infdis/jis605
- Benitz, W. E., Gould, J. B., & Druzin, M. L. (1999). Risk factors for early-onset group B streptococcal sepsis: estimation of odds ratios by critical literature review. *Pediatrics*, 103(6), e77. doi:10.1542/peds.103.6.e77
- Bergseng, H., Rygg, M., Bevanger, L., & Bergh, K. (2008). Invasive group B streptococcus (GBS) disease in Norway 1996-2006. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 27(12), 1193-1199. doi:10.1007/s10096-008-0565-8
- Berti, F., Campisi, E., Toniolo, C., Morelli, L., Crotti, S., Rosini, R., . . . Margarit, I. (2014). Structure of the type IX group B Streptococcus capsular polysaccharide and its evolutionary relationship with types V and VII. *J Biol Chem*, 289(34), 23437-23448. doi:10.1074/jbc.M114.567974

- 
- Blanco, J. D., & Gibbs, R. S. (1980). Infections following classical cesarean section. *Obstet Gynecol*, *55*, 167-169.
- Blanco, J. D., Gibbs, R. S., & Castaneda, Y. S. (1981). Bacteremia in obstetrics: Clinical course. *Obstet Gynecol*, *58*, 621-625.
- Bliss, S. J., Manning, S. D., Tallman, P., Baker, C. J., Pearlman, M. D., Marrs, C. F., & Foxman, B. (2002). Group B streptococcus colonization in male and nonpregnant female university students: a cross-sectional prevalence study. *Clinical Infectious Diseases*, *34*(2), 184-190. doi:10.1086/338258
- Bohnsack, J. F., Takahashi, S., Detrick, S. R., Pelinka, L. R., Hammitt, L. L., Aly, A. A., . . . Adderson, E. E. (2001). Phylogenetic classification of serotype III group B streptococci on the basis of hylB gene analysis and DNA sequences specific to restriction digest pattern type III-3. *J Infect Dis*, *183*(11), 1694-1697. doi:doi.org/10.1086/320717
- Boyer, K. M., & Gotoff, S. P. (1985). Strategies for chemoprophylaxis of GBS early-onset infection. *Antibiot Chemother*, *35*, 567-280.
- Boyer, K. M., Gadzala, C. A., Burd, L. I., Fisher, D. E., Patron, J. B., & Gotoff, S. P. (1983). Selective intrapartum chemoprophylaxis of neonatal group B streptococcal early-onset disease. I. Epidemiologic rationale. *J Infect Dis*, *148*(5), 795-801.
- Brochet, M., Rusniok, C., Couvé, E., Dramsi, S., Poyart, C., Trieu-Cuot, P., . . . Glaser, P. (2008). Shaping a bacterial genome by large chromosomal replacements, the evolutionary history of *Streptococcus agalactiae*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *105*(41), 15961-15966. doi:10.1073/pnas.0803654105
- Butter, M. W., & de Moor, C. E. (1967). *Streptococcus agalactiae* as a cause of meningitis in the newborn, and of bacteraemia in adults. *Antonie van Leeuwenhoek*, *33*(1), 439-450. doi:10.1007/BF02045596
- Centers for Disease Control and Prevention. (2010). CDC. Obtenido de CDC: <http://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/gbs09.pdf>
- Cieslewicz, M. J., Chaffin, D., Glusman, G., Kasper, D., Madan, A., Rodrigues, S., . . . Rubens, C. E. (2005). Structural and Genetic Diversity of Group B Streptococcus Capsular Polysaccharides. *Infect. Immun.*, *73*(5), 3096-3103. doi:10.1128/IAI.73.5.3096-3103.2005
- Collado, L. M., Kretschmer, R. R., Becker, I., Guzmán, A., Gallardo, L., & Lepe, C. M. (1981). Colonization of Mexican pregnant women with group B streptococcus. *J Infect Dis*, *143*(1), 134.
- Collado, L. M., Kretschmer, R. R., Becker, I., Guzmán, A., Gallardo, L., & Lepe, C. M. (1981). Colonization of mexican pregnant women with group B Streptococcus. *J Infect Dis*, *143*(1), 134.
-

- 
- Cowgill, K., Taylor, T. H., Schuchat, A., & Schrag, S. (2004). Report from the CDC. Awareness of perinatal Group B Streptococcal infection among women of childbearing age in the United States, 1999 and 2002. *Journal of Women's Health, 12*(6), 527-532. doi:10.1089/154099903768248221
- Dagnew, A. F., Cunnington, M. C., Dube, Q., Edwards, M. S., French, N., Heyderman, R. S., . . . Clemens, S. A. (2012). Variation in reported neonatal group B streptococcal disease incidence in developing countries. *Clin Infect Dis, 55*(1), 91-102. doi:10.1093/cid/cis395
- Dermer, P., Lee, C., Eggert, J., & Few, B. (2004). A history of neonatal group B streptococcus with its related morbidity and mortality rates in the United States. *Journal of Pediatric Nursing, 19*(5), 357-363. doi:10.1016/j.pedn.2004.05.012
- Diedrick, M. J., Flores, A. E., Hillier, S. L., Creti, R., & Ferrieri, P. (2010). Clonal analysis of colonizing group B Streptococcus, serotype IV, an emerging pathogen in the United States. *J Clin Microbiol, 48*(9), 3100-3104. doi:10.1128/JCM.00277-10
- Diseases, C. o. (2006). Group B streptococcal infections. In: *Pickering LK, Report of the Committee on Infectious Diseases, 27th edn. Elk Grove Village: American Academy of Pediatrics, 620-627.*
- Doran, K. S., & Nizet, V. (2004). Molecular pathogenesis of neonatal group B streptococcal infection: no longer in its infancy. *Mol Microbiol, 54*, 23-31. doi:doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04266.x
- Edmond, K. M., Kortsalioudaki, C., Scott, S., Schraq, S. J., Zaidi, A. K., Cousens, S., & Heath, P. T. (2012). Group B streptococcal disease in infants aged younger than 3 months: systematic review and meta-analysis. *Lancet, 379*(9815), 547-546. doi:10.1016/S0140-6736(11)61651-6
- Edwards, M. S., & Baker, C. J. (2005). Group B streptococcal infections in elderly adults. *Clinical Infectious Diseases, 41*(6), 839-847. doi:10.1086/432804
- Edwards, M. S., & Nizet, W. (2011). *Group B streptococcal infections.* (7a ed.). (J. Remington, J. Klein, & C. Wilson, Eds.) Philadelphia, PA: Saunders.
- Edwards, M. S., Kasper, D. L., Jennings, H. J., Baker, C. J., & Nicholson, W. (1982). Capsular sialic acid prevents activation of the alternative complement pathway by type III, group B streptococci. *J. Immunol, 128*, 1278-1283.
- Edwards, M. S., Rench, M. A., Haffar, A. A., Murphy, M. A., Desmond, M. M., & Baker, C. J. (1985). Long-term sequelae of group B streptococcal meningitis in infants. *J Pediatr, 106*(5), 717-722.
- Eickhoff, T. C., Klein, J. O., Daly, A. K., Ingall, D., & Finland, M. (1964). Neonatal sepsis and other infections due to group B beta-hemolytic streptococci. *New England Journal of Medicine, 10*(271), 1221-1228. doi:10.1056/NEJM196412102712401

- 
- Emmons, S. L., Krohn, M., Jackson, M., & Eschenbach, D. A. (1988). Development of wound infections among women undergoing cesarean section. *Obstet Gynecol*, *72*, 559-564.
- Ferrieri, P., Lynfield, R., Creti, R., & Flores, A. E. (2013). Serotype IV and invasive group B Streptococcus disease in neonates, Minnesota, USA, 2000-2010. *Emerg. Infect*, *19*(4), 551-558. doi:10.3201/eid1904.121572.
- Fierri, P. (1988). Surface-localized protein antigens of group B streptococci. *Rev Infect Dis*, *10*, S363-S366.
- Florindo, C., Damiao, V., Silvestre, I., Farinha, C., Rodrigues, F., Nogueira, F., . . . Group for the Prevention of Neonatal GBS Infection. (2014). Epidemiological surveillance of colonising group B Streptococcus epidemiology in the Lisbon and Tagus Valley regions, Portugal (2005 to 2012): emergence of a new epidemic type IV/clonal complex 17 clone. *Euro Surveill*, *19*(23). doi:10.2807/1560-7917.ES2014.19.23.20825
- Fry, R. M. (1938). Fatal infections by hemolytic streptococcus group B. *Lancet*, *1*, 199-201. doi:10.1016/S0140-6736(00)93202-1
- Gibbs, R. S. (2002). The origins of stillbirth: infectious diseases. *Semin Perinatol*, *26*(1), 75-78. doi:doi.org/10.1053/sper.2002.29839
- Gibbs, R. S., Schrag, S., & Schuchat, A. (2004). Perinatal Infections Due to Group B Streptococci. *Obstetrics & Gynecology*, *104*(5, Part 1), 1062-1076. doi:10.1097/01.AOG.0000144128.03913.c2
- González-Pedraza, A. A., Ortíz-Zaragoza, M. C., Madrigal de Leon, H. G., Corzo-Coello, M. T., & Flores-Huitron, P. (2004). Colonización por Streptococcus grupo B en mujeres de un centro de atención primaria de la ciudad de México. *Arch Med Fam*, *6*, 44-47.
- Harrison, L. H., Elliott, J. A., Swyer, D. M., Libonati, J. P., Ferrieri, P., Billmann, L., & Schuchat, A. (1998). Serotype distribution of invasive group B streptococcal isolates in Maryland: implications for vaccine formulation. Maryland Emerging Infections Program. *J Infect Dis*, *177*(4), 998-1002.
- Hayrinen, J. D., Bitter-Suermann, & Finne, J. (1989). Interaction of meningococcal group B monoclonal antibody and its Fab fragment with alpha 2-8-linked sialic acid polymers: requirement of a long oligosaccharide segment for binding. *Mol. Immunol*, *26*, 523-529.
- Helmig, R., Uldbjerg, N., Boris, J., & Killian, M. (1993). Clonal analysis of Streptococcus agalactiae isolated from infants with neonatal sepsis or meningitis and their mothers and from healthy pregnant women. *J Infect Dis*, *168*, 904-909.

- 
- Hickman, M. E., Rench, M. A., Ferrieri, P., & Baker, C. J. (1999). Changing epidemiology of group B streptococcal colonization. *Pediatrics*, *104*(2 Pt 1), 203-209.
- Hillier, S. L., Krohn, M. A., Kiviat, N. B., Watts, H. D., & Eschenbach, D. A. (1991). Microbiologic causes and neonatal outcomes associated with chorioamnion infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, *165*(4 (Pt. 1)), 955-961. doi:10.1016/0002-9378(91)90447-Y
- Hood, M., Janney, A., & Dameron, G. (1961). Beta hemolytic streptococcus Group B associated with problems of the perinatal period. *Am J Obstet Gynecol*, 809-818. doi:10.1016/S0002-9378(16)36146-4S0002-9378(16)36146-4/pdf
- Howard, C. J., & Glynn, A. A. (1971). The virulence for mice of strains of *Escherichia coli* related to the effects of K antigens on their resistance to phagocytosis and killing by complement. *Immunology*, *20*, 767-777.
- Islam, A. M. (1977). Rapid recognition of group B streptococci. *Lancet*, *309*(8005), 256-257.
- Jiang, S. M., Cieslewicz, M. J., Kasper, D. L., & Wessels, M. R. (2005). Regulation of virulence by a two-component system in group B streptococcus. *J Bacteriol*, *187*(3), 1105-1113. doi:10.1128/JB.187.3.1105-1113.2005
- Joubrel, C., Tazi, A., Six, A., Dmytruk, N., Touak, G., Bidet, P., . . . Kernéis, S. (2015). Group B streptococcus neonatal invasive infections, France 2007-2012. *Clin Microbiol Infect*, *21*(10), 910-916. doi:doi: 10.1016/j.cmi.2015.05.039
- Katz, V., & Bowes, W. A. (1988). Perinatal group B streptococcal infections across intact amniotic membranes. *J Reprod Med*, *33*(5), 445-449.
- Kim, K. S., Kang, J. H., & Cross, A. S. (1986). The role of capsular antigens in serum resistance and in vivo virulence of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett*, *35*, 275-278.
- Lachenauer, C. S., Kasper, D. L., Shimada, J., Ichiman, Y., Ohtsuka, H., Kaku, M., . . . Madoff, L. C. (1999). Serotypes VI and VIII predominate among group B streptococci isolated from pregnant Japanese women. *J Infect Dis*, *179*(4), 1030-1033. doi:10.1086/314666
- Lamagni, T. M., Keshishian, C., Efstratiou, A., Guy, R., Henderson, K. L., Broughton, K., & Sheridan, E. (2013). Emerging trends in the epidemiology of invasive group B streptococcal disease in England and Wales, 1991-2010. *Clin. Infect. Dis*, *57*(5), 682-688. doi:10.1093/cid/cit337
- Lamy, M. C., Zouine, M., Fert, J., Vergassola, M., Couve, E., Pellegrini, E., . . . Poyart, C. (2004). CovS/CovR of group B streptococcus: a two-component global regulatory system involved in virulence. *Mol Microbiol*, *54*(5), 1250-1268. doi:10.1111/j.1365-2958.2004.04365.x
-

- 
- Lancefield, R. C. (1934). A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J Exp Med*, 57, 571-595.
- Lancefield, R. C., & Hare, R. (1935). The serological differentiation of pathogenic and non-pathogenic strains of hemolytic streptococci from parturient women. *The Journal of Experimental Medicine*, 61(3), 335-349. doi:10.1084/jem.61.3.335
- Larsen, J. W., & Sever, J. L. (2008). Group B streptococcus and pregnancy: a review. *Am J ObstetGynecol*, 440-448.
- Lawn, J. E., Gravett, M. G., Nunes, T. M., Rubens, C. E., Stanton, C., & GAPPS Review Group. (2010). Global report on preterm birth and stillbirth (1 of 7): definitions, description of the burden and opportunities to improve data. *BMC Pregnancy Childbirth*, Suppl 1: S1. doi:10.1186/1471-2393-10-S1-S1
- Le Doare, K., & Heath, T. P. (2013). An overview of global GBS epidemiology. *Vaccine*, 31(Supplement 4: S4), D7-D12. doi:10.1016/j.vaccine.2013.01.009
- Libster, R., Edwards, K. M., Levente, F., Edwards, M. S., Rench, M. A., Castagnini, L. A., . . . Shah, P. E. (2012). Long-term outcomes of group B streptococcal meningitis. *Pediatrics*, 130(1), e8-15. doi:10.1542/peds.2011-3453
- Lin F, Y. C., Weisman, L. E., Troendle, J., & Adams, K. (2003). Prematurity is the major risk factor for late-onset group B streptococcus disease. *J Infect Dis*, 188, 267-271. doi:doi.org/10.1086/376457
- Lin, F. Y., Clemens, J. D., Azimi, P. H., Regan, J. A., Weisman, L. E., Philips, J. B., . . . Ferrieri, P. (1998). Capsular polysaccharide types of group B streptococcal isolates from neonates with early-onset systemic infection. *J Infect Dis*, 177, 790-792.
- Lione, V. O., Santos, G. S., Hirata Jr, R., Mattos-Guaraldi, A. L., & Nagao, P. E. (2005). Involvement of intercellular adhesion molecule-1 and  $\beta$ 1 integrin in the internalization process to human endothelial cells of group B streptococcus clinical isolate. *Int J Mol Med*, 15, 153-157.
- Lipsitch, M. (1999). Bacterial vaccines and serotype replacement: lessons from Haemophilus influenzae and prospects for Streptococcus pneumoniae. *Emerg. Infect.*, 3, 336-345.
- Madhi, S. A., Dangor, Z., Heath, P. T., Schraq, S., Izu, A., Sobanjo-Ter, M. A., & Dull, P. M. (2013). Considerations for a phase-III trial to evaluate a group B Streptococcus polysaccharide-protein conjugate vaccine in pregnant women for the prevention of early- and late-onset invasive disease in young-infants. *Vaccine*, 31, (Suppl 4):D52-7. doi:doi: 10.1016/j.vaccine.2013.02.029
- Manning, S. D., Springman, A. C., Lehotzky, E., Lewis, M., Whittam, T. S., & Davies, H. D. (2009). Multilocus Sequence Types Associated with Neonatal Group B
-



---

Streptococcal Sepsis and Meningitis in Canada. *J Clin Microbiol*, 47(4), 1143-1148.  
doi:10.1128/JCM.01424-08

- Marques, M. B., Kasper, D. L., Shroff, A., Michon, F., Jennings, H. J., & Wessels, M. R. (1994). Functional activity of antibodies to the group B polysaccharide of Group B streptococci elicited by a polysaccharide-protein conjugate vaccine. *Infect Immun*, 62, 1593-1599.
- Meehan, M., Cunney, R., & Cafferkey, M. (2014). Molecular epidemiology of group B streptococci in Ireland reveals a diverse population with evidence of capsular switching. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 33(7), 1155-1162. doi:10.1007/s10096-014-2055-5
- Meehan, M., Cunney, R., & Cafferkey, M. (2014). Molecular epidemiology of group B streptococci in Ireland reveals a diverse population with evidence of capsular switching. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 33(7), 1155-1162. doi:10.1007/s10096-014-2055-5
- Melin, P., & Efstratiou, A. (2013). Group B streptococcal epidemiology and vaccine needs in developed countries. *Vaccine*, Suppl 4: D31-42.  
doi:10.1016/j.vaccine.2013.05.012
- Money, D. M., Dobson, S., & Infectious Diseases Committee. (2004). The prevention of early-onset neonatal Group B streptococcal disease. *ObstetGynaecol Can*, 26, 826-832.
- Musser, J. M., Mattingly, S. J., Quentin, R., Goudeau, A., & Selander, R. K. (1989). Identification of a high-virulence clone of type III Streptococcus agalactiae (group B Streptococcus) causing invasive neonatal disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86, 4731-4735.
- Ocampo-Torres, M., Sánchez-Pérez, H. J., Nazar-Beuelpacher, A., Castro-Ramírez, A. E., & Cordero-Ocampo, B. (2000). Factors associated with Streptococcus group B colonization in pregnant women in Los Altos, Chiapas. *Salud Publica Mex*, 413-421.
- Palacios-Saucedo, G. (2009). Neumonía por Estreptococo del grupo B. En F. J. Ávila-Cortés, *Infecciones Respiratorias en Pediatría* (págs. 352-358). México: McGraw-Hill Interamericana.
- Palacios-Saucedo, G., Caltenco-Serrano, R., Torres-Lopez, J., Tapia-Conyer, R., Muñoz-Hernández, O., & Solórzano-Santos, F. (2002). Exposición a Estreptococo del grupo B en mujeres mexicanas en edad reproductiva. *Salud Pública de México*, 44, 50-56.
- Palacios-Saucedo, G., Eskew, E. K., Solorzano-Santos, F., & Mattingly, S. J. (1997). Decreased Capacity for Type-Specific-Antigen Synthesis Accounts for High Prevalence of Nontypeable Strains of Group B Streptococci In Mexico. *Journal of*

---

*Clinical Microbiology*, 35(11), 2923-2926. Retrieved from  
<http://jcm.asm.org/content/35/11/2923.long>

- Palacios-Saucedo, G., González, M. N., Beltrán, M., Arredondo, J. L., Torres, J., & Sólorzano, F. (2005). Serotypes of 286 group B streptococci isolated from asymptomatic carriers and invasive disease cases in Mexico. *Revista Latinoamericana De Microbiología*, 47(1-2), 21-24.
- Palacios-Saucedo, G., González, M. N., Beltrán, M., Arredondo, J. L., Torres, J., & Sólorzano-Santos, F. (2007). High-Virulence Clone of Group B Streptococci Unable to Grow at High Temperatures Is Present in Serotypes Other Than Type III. *Current Microbiology*, 54, 42-47. doi:10.1007/s00284-006-0291-3
- Palmeiro, J. K., Dalla-Costa, L. M., Fracalanza, S. E., Botelho, A. C., da Silva Nogueira, K., Scheffer, M. C., . . . Madeira, H. M. (2010). Phenotypic and Genotypic Characterization of Group B Streptococcal Isolates in Southern Brazil. *J Clin Microbiol*, 48(12), 4397-4403. doi:10.1128/JCM.00419-10
- Payne, R. N., Burke, A. B., Day, L. D., Christenson, D. P., Thompson, R. T., & Ferrieri, P. (1988). Correlation of clinical and pathologic findings in early onset neonatal group B Streptococcal infection with disease severity and prediction of outcome. *Pediatr Infect Dis J*, 836-847.
- Phares, C. R., Lynfield, R., Farley, M. M., Mohle-Boetani, J., Harrison, L. H., Craig, A. S., . . . Schrag, S. J. (2008). Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *JAMA*, 299(17), 2056-2065. doi:10.1001/jama.299.17.2056
- Pritzlaff, C. A., Chang, J. C., Kuo, S. P., Tamjura, G. S., Rubens, C. E., & Nizet, V. (2001). Genetic basis for the beta-haemolytic/cytolytic activity of group B Streptococcus. *Mol Microbiol*, 39(2), 236-247. doi:10.1046/j.1365-2958.2001.02211.x
- Randis, T. M., Gelber, S. E., Hooven, T. A., Abellar, R. G., Akabas, L. H., Lewis, E. L., . . . Ratner, A. J. (2014). Group B Streptococcus  $\beta$ -hemolysin/cytolysin breaches maternal-fetal barriers to cause preterm birth and intrauterine fetal demise in vivo. *J Infect Dis*, 210(2), 265-273. doi:10.1093/infdis/jiu067
- Regan, J. A., Klebanoff, M. A., & Nugent, R. P. (1991). The epidemiology of group B streptococcal colonization in pregnancy. Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Obstet Gynecol*, 77, 604-610.
- Reyna, F. J., Ortiz, I. J., Esteves, J. A., & Casanova, R. G. (2007). Colonización materna por Streptococcus del grupo B en México: estimación de la prevalencia basada en la revisión bibliográfica. *Revista Ginecología y Obstetricia de México*, 75(07), 399-403.
- Roberts, S., Maccato, M., Faro, S., & Pinell, P. (1993). The microbiology of post-cesarean wound morbidity. *Obstet Gynecol*, 81(3), 383-386.

- 
- Romero, R., Dey, S. K., & Fisher, S. J. (2014). Preterm labor: one syndrome, many causes. *Science*, 345(6198), 760-765. doi:10.1126/science.1251816.
- Rosene, K., Echenbach, D. A., Tompkins, L. S., Kenny, G. E., & Watkins, H. (1986). Polymicrobial early postpartum endometritis with facultative and anaerobic bacteria, genital mycoplasmas and Chlamydia trachomatis: treatment with piperacillin or cefoxitin. *J Infect Dis*, 153, 1028-1037.
- Santos, G. S., Miyazaki, N. H., Mattos-Guaraldi, A. L., & Nagao, P. E. (2003). The effects of interferon-gamma and transforming growth factor-beta on adherence and survival of group B Streptococcus type III strains in ECV304 cells. *Int J Mol Med*, 11(3), 401-406. doi:10.3892/ijmm.11.3.401
- Schrag, S. J., Zywicki, S., Farley, M. M., Reingold, A. L., Harrison, L. H., Lefkowitz, L. B., . . . Schuchat, A. (2000). Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N Engl J Med*, 342(1), 15-20. doi:10.1056/NEJM200001063420103
- Schuchat, A. (1998). Epidemiology of Group B Streptococcal Disease in the United States: Shifting Paradigms. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(3), 497-513.
- Schuchat, A., & Wenger, J. D. (1994). Epidemiology of group B streptococcal disease. Risk factors, prevention strategies, and vaccine development. *Epidemiol Rev*, 16(2), 374-402.
- Schuchat, A., Oxtoby, M., Broome, C. V., Cochi, S., Sikes, R. K., Hightower, A., & Plikaytis, B. (1990). Population-based risk factors for neonatal group B streptococcal disease: results of a cohort study in metropolitan Atlanta. *J Infect Dis*, 162(3), 672-677.
- Skoff, T. H., Farley, M. M., Petit, S., Caig, A. S., Schaffner, W., Gershman, K., . . . Schrag, S. J. (2009). Increasing burden of invasive group B streptococcal disease in nonpregnant adults, 1990-2007. *Clin Infect Dis*, 49(1), 85-92. doi:10.1086/599369.
- Slotved, H. C., Kong, F., Lambertsen, L., Sauer, S., & Gilbert, G. L. (2007). Serotype IX, a Proposed New Streptococcus agalactiae Serotype. *J Clin Microbiol*, 45(9), 2929-2936. doi:10.1128/JCM.00117-07
- Sólorzano-Santos, F., Arredondo, G. L., Ortiz, I. F., Díaz, R. D., Cázares, O. M., & Echániz, A. G. (1990). Streptococcus del grupo B en la etiología de la infección neonatal. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 47, 146-152.
- Sólorzano-Santos, F., Díaz-Ramós, R. D., & Arredondo-García, J. L. (1990). Diseases caused by group B Streptococcus in Mexico. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 9(1), 66.
- Sólorzano-Santos, F., Echaniz-Aviles, G., Conde-Glez, C. J., Calderon-Jaimes, E., Arredondo-Garcia, J. L., & Beltran-Zuniga, M. (1989). Cervicovaginal Infection
-

- 
- with Group B Streptococci Among Pregnant Mexican Women. *The Journal of Infectious Diseases*, 159(5), 1003-1004. doi:10.1093/infdis/159.5.1003
- Sperling, R. S., Newton, E., & Gibbs, R. S. (1988). Intra-amniotic infection in low birth-weight infants. *J Infect Dis*, 157, 113-117.
- Stevens, D. L., & Kaplan, E. L. (2000). *Streptococcal Infections: Clinical Aspects, Microbiology, and Molecular Pathogenesis*. New York: Oxford University Press.
- Stevens, D. L., & Kaplan, E. L. (2000). *Streptococcal Infections: Clinical Aspects, Microbiology, and Molecular Pathogenesis* (1era ed.). Oxford University Press.
- Stoll, B. J., & Schuchat, A. (1998). Maternal carriage of group B streptococci in developing countries. *Pediatr Infect Dis J*, 17, 499-503.
- Stoll, B. J., Hansen, N. I., Sánchez, P. J., Faix, R. G., Poindexter, B. B., Van Meurs, K. P., . . . Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child. (2011). Early Onset Neonatal Sepsis: The Burden of Group B Streptococcal and E. coli Disease Continues. *Pediatrics*, 127(5), 817-826. doi:10.1542/peds.2010-2217
- Sweet, R. L., & Gibbs, R. S. (2002). Group B Streptococci. In R. L. Sweet, & R. S. Gibbs, *Infectious diseases of the female genital tract* (4th ed., pp. 31-46). Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins.
- Takahashi, S., Detrick, S., Whiting, A. A., Blaschke-Bonkowsky, A. J., Aoyagi, Y., Adderson, E. E., & Bohnsack, J. F. (2002). Correlation of phylogenetic lineages of group B streptococci, identified by analysis of restriction-digest patterns of genomic DNA with infB alleles and mobile genetic elements. *J Infect Dis*, 186, 1034-1038.
- Teatero, S., Athey, T. B., Caesele, P. V., Horsman, G., Alexander, D. C., Melano, R. G., . . . Fittipaldi, N. (2015). Emergence of Serotype IV Group B Streptococcus Adult Invasive Disease in Manitoba and Saskatchewan, Canada, Is Driven by Clonal Sequence Type 459 Strains. *J. Clin. Microbiol*, 53(9), 2919-2926. doi:10.1128/JCM.01128-15
- Teatero, S., McGeer, A., Li, A., Gomes, J., Seah, C., Demczuk, W., . . . Fittipaldi, N. (2015). Population Structure and Antimicrobial Resistance of Invasive Serotype IV Group B Streptococcus, Toronto, Ontario, Canada. *Emerg Infect Dis*, 21(4), 585-591. doi:10.3201/eid2014.140759
- Teatero, S., McGeer, A., Low, E. D., Li, A., Demczuk, W., Martin, I., & Fittipaldi, N. (2014). Characterization of Invasive Group B Streptococcus Strains from the Greater Toronto Area, Canada. *J. Clin. Microbiol*, 52(5). doi:10.1128/JCM.03554-13
- Thinkhamrop, J., Limpongsanurak, S., Festin, M. R., Daly, S., Schuchat, A., Lumbiganon, P., . . . Whitney, C. G. (2003). Infections in International Pregnancy Study:
-

---

Performance of the Optical Immunoassay Test for Detection of Group B Streptococcus. *J. Clin. Microbiol*, 41(11), 2588-2590.  
doi:10.1128/JCM.41.11.5288-5290.2003

- Tien, N., Ho, C. M., Lin, H. J., Shih, M. C., Ho, M. W., Lin, H. C., . . . Lu, J. J. (2011). Multilocus sequence typing of invasive group B Streptococcus in central area of Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*, 44(6), 430-434.  
doi:10.1016/j.jmii.2011.04.013
- Verani, J. R., McGee, L., & Schrag, S. J. (2010). Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease: Revised Guidelines from CDC, 2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 59(RR10), 1-32. Retrieved from <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5910a1.htm>
- Villaseñor-Sierra, A., Morales-Velázquez, P., Palacios-Saucedo, G., & Solórzano-Santos, F. (2004). Prevalencia de Streptococcus agalactiae del serotipo III. *Revista Ginecología y Obstetricia de México*, 72(3), 103-108. Obtenido de [http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id\\_articulo=23420&id\\_seccion=407&id\\_ejemplar=2411&id\\_revista=40](http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=23420&id_seccion=407&id_ejemplar=2411&id_revista=40)
- Vornhagen, J., Waldorf A, K. M., & Rajagopal, L. (2017). Perinatal Group B Streptococcal Infections: Virulence Factors, Immunity, and Prevention Strategies. *Trends in Microbiology*, 25(11), 919-931. doi:10.1016/j.tim.2017.05.013
- Whidbey, C., Harrell, M. I., Burnside, K., Ngo, L., Becraft, A. K., Lyer, L. M., . . . Rajagopal, L. (2013). A hemolytic pigment of Group B Streptococcus allows bacterial penetration of human placenta. *J Exp Med*, 210(6), 1265-1281.  
doi:10.1084/jem.20122753
- Wyle, F. A., Artenstein, M. S., Brandt, B. L., Tramont, E. C., Kasper, D. L., Altieri, P. L., . . . Lowenthal, J. P. (1973). Immunologic response of man to group B meningococcal polysaccharide vaccines. *J. Infect. Dis*, 126, 514-521.
- Yancey, M. K., Schuchat, A., Brown, L. K., Ventura, V. L., & Markenson, G. R. (1996). The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. *Obstet Gynecol*, 88(5), 811-815.
- Zalenznik, D. F., Rench, M. A., Hillier, S., Krohn, M. A., Platt, R., Lee, M. L., . . . Baker, C. J. (2000). Invasive disease due to group B Streptococcus in pregnant women and neonates from diverse population groups. *Clin Infect Dis*, 30(2), 276-281.  
doi:doi.org/10.1086/313665

## XII. ANEXOS



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN  
Y POLÍTICAS DE SALUD  
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD  
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO  
(ADULTOS)

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

**Nombre del estudio:** "Epidemiología clínica y molecular de la infección perinatal por *Streptococcus* grupo B en una unidad médica de tercer nivel de atención del Noreste de México"

**Patrocinador externo:** No aplica.

**Lugar y Fecha:** \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

**Número de Registro:** \_\_\_\_\_

**Justificación y objetivo del estudio:** Le estamos invitando a participar en un estudio de investigación clínica que se realiza en la Unidad Médica de Alta Especialidad No. 23 Hospital de Ginecología y Obstetricia "Dr. Ignacio Morones Prieto" (UMAE 23) del Instituto Mexicano del Seguro Social en Monterrey, el cual tiene como propósito evaluar diversas características clínicas de usted, de la bacteria y relacionadas con la herencia de la infección causada durante el embarazo y el nacimiento por *Streptococcus* del grupo B (EGB), una bacteria que puede infectar a la mujer embarazada y a su recién nacido. Se va a evaluar la presencia de esta bacteria en las mujeres embarazadas, así como los posibles factores que podrían estar condicionando que unas mujeres tengan o no dicha bacteria y desarrollen o no enfermedad por la misma. Usted ha sido invitada a participar en este estudio debido a que usted es una mujer embarazada, y al igual que usted otras pacientes de la UMAE No. 23 que están embarazadas serán invitadas a participar y se incluirán en este estudio si así lo desean. Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Por favor, lea a detalle y detenidamente la información que le estamos proporcionando y haga todas las preguntas que le parezcan necesarias antes de decidir si desea o no participar en este estudio.

**Procedimientos:** Si usted acepta participar en este estudio se le tomará una muestra con un hisopo (raspado con un aplicador de algodón o "cotonete") de la entrada de su vagina y de alrededor de su ano, para determinar si usted tiene la bacteria EGB, y dos muestras de sangre de 5 mililitros cada una para medir su azúcar en la sangre y buscar algunos genes o factores relacionados con la herencia que podrían estar predisponiendo a las personas a tener esta bacteria.

Si se detecta en usted la bacteria EGB, una vez que dé a luz se le estará solicitando su consentimiento, sólo si usted lo permite, para que su hijo recién nacido participe en la siguiente etapa de esta investigación. Si en ese momento usted da su consentimiento, a su hijo también se le tomará una muestra con un aplicador de algodón o "cotonete" de la garganta, de alrededor del ombligo y de alrededor del ano para determinar si también tiene dicha bacteria.

Si usted resultó tener la bacteria EGB, se dará aviso de esto de manera inmediata a su médico tratante y va a ser vigilada después del parto o cesárea con citas mensuales, o antes si es necesario, durante 3 meses para evaluar clínicamente si desarrolla o no enfermedad por EGB. Si ocurre lo anterior se le realizarán de manera inmediata los estudios clínicos, de laboratorio y de rayos X necesarios, y se iniciará inmediatamente el tratamiento específico contra dicha bacteria, como a continuación se detalla. Usted y su esposo serán instruidos para la vigilancia de datos clínicos como los siguientes: aumento de temperatura, molestia o ardor al orinar, urgencia para orinar o aumento en la frecuencia de orinar, dolor en la parte baja del abdomen o espalda, abdomen "inflado", sangrado o flujo anormal por su vagina, puede o no ser mal oliente, enrojecimiento o hinchazón en la herida de la cirugía, con la instrucción de que si se presenta cualquiera de estas manifestaciones acuda inmediatamente a evaluación clínica al Servicio de Infectología en el 8º Piso de la UMAE 23 con el Dr. Amílcar Caballero Trejo. Si se sospecha que usted ha desarrollado enfermedad por EGB de este tipo, se realizarán de manera inmediata los estudios de laboratorio y rayos X necesarios, como examen de glóbulos rojos y blancos de la sangre, estudios para evaluar que su cuerpo está respondiendo a la infección, examen de orina, y en caso de requerirlo radiografía y/o ultrasonido de su pelvis y abdomen. También se le realizarían estudios para buscar la bacteria EGB en diferentes sitios, que pueden incluir dependiendo de la sospecha clínica, cultivo de orina, cultivo de sangre, cultivo de secreción de su vagina o de una muestra obtenida con un aplicador de algodón o "cotonete" del cuello de su matriz, o un aspirado del interior de su matriz y/o un cultivo de un aspirado por punción con aguja del borde inflamado de la herida de la cirugía si estuviere presente. Cada uno de estos estudios, sólo en caso de presentar síntomas de infección en dicho sitio. Además se iniciará también de manera inmediata el tratamiento específico con antibióticos, el cual será indicado por su médico tratante y que puede incluir, entre otros, cualquiera de los siguientes antibióticos: penicilina o ampicilina o clindamicina o eritromicina a las dosis médicamente recomendadas.

Usted también autoriza que los resultados obtenidos sean registrados en una base de datos para los propósitos de este estudio: Conocer la frecuencia de esta bacteria en la mujer embarazada y conocer si existen características de la mujer embarazada, del embarazo, del parto y del *Streptococcus* del grupo B que se relacionen con la presencia o no de esta bacteria y el desarrollo o no de enfermedad. Esto en un futuro podría ayudar a los médicos a establecer si todas las



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

mujeres embarazadas deben ser estudiadas para detectar esta bacteria, y si se justifica o no la administración de antibióticos a ellas en caso de detectarla.

**Posibles riesgos y molestias:** Puede sentir molestia cuando se le tome la muestra de la entrada de su vagina y de alrededor de su ano. Puede haber una molestia cuando se le tome la muestra de sangre y es posible la formación de un moretón en el sitio donde se le tome la muestra. Los investigadores harán todo lo posible por minimizar estos riesgos y molestias.

**Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:** 1) Usted no recibirá ninguna remuneración económica por participar en este estudio, y su participación no implicará ningún gasto extra. 2) Se podrá identificar de manera temprana si usted tiene la bacteria *Estreptococo* del grupo B, y si se detecta en usted, una vez que dé a luz se le estará solicitando su consentimiento si usted lo permite para que también se busque esta bacteria en su hijo. 3) Si se detecta *Estreptococo* del grupo B en usted, se informará de manera inmediata a su médico tratante. Además usted estará bajo vigilancia clínica estrecha por un médico especialista en mujeres embarazadas para detectar de manera temprana si desarrolla o no enfermedad por esta bacteria y así iniciar tratamiento rápido y oportuno. 4) Si durante la vigilancia clínica usted presenta síntomas que sugieran infección por esta bacteria, se realizarán de manera inmediata todos los estudios de laboratorio y de rayos X necesarios, y se iniciará también de manera inmediata tratamiento con los antibióticos adecuados.

**Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:** Durante el transcurso de este estudio le informaremos de cualquier hallazgo nuevo, sea bueno o malo, que sea importante para la decisión de participar o continuar participando en este estudio; por ejemplo, si hubieran cambios en los riesgos o beneficios por su participación en esta investigación o si hubieran nuevas alternativas de tratamiento que pudieran cambiar su opinión sobre su participación en este estudio. Si le llegamos a proporcionar información nueva, nuevamente le solicitaremos su consentimiento para seguir participando en este estudio sólo si usted lo permite.

**Participación o retiro:** Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, seguirá recibiendo la atención médica brindada por el IMSS a la que usted tiene derecho, se le ofrecerán los procedimientos establecidos dentro de los servicios de atención médica del IMSS. Es decir, que si usted no desea participar en este estudio, su decisión no afectará su relación con el IMSS y su derecho a obtener los servicios de salud u otros servicios que como derechohabiente recibe del IMSS. Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento sin que esto modifique de ninguna manera los beneficios que usted tiene como derechohabiente del IMSS.

**Privacidad y confidencialidad:** Para garantizar su privacidad, la información que usted nos proporcione que pudiera ser utilizada para identificarla, como nombre, teléfono y dirección, será guardada de manera confidencial y por separado, al igual que los resultados de sus estudios clínicos y de laboratorio y rayos X obtenidos en esta investigación. El equipo de investigadores y los médicos de la UMAE No. 23 que están a cargo de su atención médica sabrán que usted está participando en este estudio. Nadie más tendrá acceso a la información que usted nos proporcione durante su participación en este estudio, al menos que usted así lo desee. Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias no se dará información que pudiera revelar su identidad, la cual será protegida y ocultada, por lo que le asignaremos un número que utilizaremos para identificarle en nuestras bases de datos.

**Debido a que en este estudio se le tomarán a usted** muestras de material biológico, como las muestras para cultivo de la bacteria *Estreptococo* del grupo B y muestra de sangre para estudio de genes [herencia], usted debe decidir si autoriza o no la toma de dichas muestras, y si autoriza la toma de las muestras usted debe decidir si autoriza el uso de las mismas sólo para los fines de este estudio o si autoriza su empleo para este estudio y estudios posteriores. Estas muestras corresponden a la bacteria *Estreptococo* del grupo B si es encontrada en usted. Si usted autoriza el uso de dicha bacteria para estudios posteriores, los investigadores guardarán la bacteria durante cinco años para realizar diversos estudios microbiológicos y genéticos con dicha bacteria. Siéntase libre de tomar la decisión que considere mejor para usted. **Por favor marque con una X una de las opciones que se presentan abajo (únicamente debe indicar la opción que usted decida):**

No autorizo que se tomen las muestras.

Sí autorizo que se tomen las muestras para este estudio.

Sí autorizo que se tomen las muestras para este estudio y su empleo para estudios futuros.

**En caso de dudas o aclaraciones sobre el estudio podrá dirigirse a:**

**Investigador responsable y colaboradores:** En caso de que usted o su esposo tengan alguna duda acerca del estudio en el que se encuentra participando o sobre sus derechos o trato que debe estar o está recibiendo, o sobre el sitio al cual debe dirigirse en caso de requerir atención médica, comunicarse de lunes a viernes de 7:30 a 14:00 horas con los investigadores Dr. Amílcar Caballero Trejo o Dra. Evangelina Briones Lara al teléfono (01-81) 8371-4100 ext. 41713 o con el Investigador Responsable Dr. Gerardo del Carmen Palacios Saucedo al teléfono (01-81) 8371-4100 ext. 41315, o con el Médico que fue encargado de obtener el Consentimiento Informado Dr. \_\_\_\_\_, al teléfono \_\_\_\_\_, o bien puede dirigirse a cualquiera de los siguientes correos electrónicos: [dramilcabcaballero@hotmail.com](mailto:dramilcabcaballero@hotmail.com) o [evangelina.briones@imss.gob.mx](mailto:evangelina.briones@imss.gob.mx) o [gerardo.palacios@imss.gob.mx](mailto:gerardo.palacios@imss.gob.mx)



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante en esta investigación podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la Comisión Nacional de Investigación Científica (CNIC) del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono 01 (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: [comision.etica@imss.gob.mx](mailto:comision.etica@imss.gob.mx)

**Declaración de consentimiento informado:** Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído o alguien me ha leído el contenido de este formato de consentimiento. Se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato. Al firmar este formato doy libremente mi consentimiento para participar en este estudio de investigación.

\_\_\_\_\_  
**Paciente Participante**  
Nombre, firma, dirección y teléfono

\_\_\_\_\_  
**Esposo o Compañero**  
Nombre, firma, dirección y teléfono

\_\_\_\_\_  
**Nombre y firma del encargado  
de obtener el consentimiento informado**

\_\_\_\_\_  
**Testigo 1**  
Nombre, firma, dirección y teléfono  
Relación con el paciente (familiar, amigo, conocido, etc.)

\_\_\_\_\_  
**Testigo 2**  
Nombre, firma, dirección y teléfono  
Relación con el paciente (familiar, amigo, conocido, etc.)

Clave: 2810-009-014

Clave: 2810-003-002





INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN  
Y POLÍTICAS DE SALUD  
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD  
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO  
(NIÑOS)

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

**Nombre del estudio:** "Epidemiología clínica y molecular de la infección perinatal por *Streptococo* grupo B en una unidad médica de tercer nivel de atención del Noreste de México"

**Patrocinador externo:** No aplica.

**Lugar y fecha:** \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_.

**Número de registro:** \_\_\_\_\_.

**Justificación y objetivo del estudio:** Le estamos invitando para que su recién nacido participe en un estudio de investigación clínica que se realiza en la Unidad Médica de Alta Especialidad No. 23 Hospital de Ginecología y Obstetricia "Dr. Ignacio Morones Prieto" (UMAE 23) del Instituto Mexicano del Seguro Social en Monterrey, el cual tiene como propósito evaluar diversas características clínicas de su recién nacido, de la bacteria y relacionadas con la herencia de la infección causada durante el embarazo y el nacimiento por *Streptococo* del grupo B (EGB), una bacteria que puede infectar a la mujer embarazada y a su recién nacido. Se le hace esta invitación debido a que a usted se le detectó esta bacteria y, al igual que usted, a otras pacientes de la UMAE No. 23 a las que se les haya detectado esta bacteria se les extenderá la invitación para que sus recién nacidos participen en este estudio si así lo desean.

Se solicita su autorización para buscar la presencia de esta bacteria en su recién nacido, para así evaluar qué tan frecuentemente y cómo se transmite a los recién nacidos, así como evaluar que factores podrían estar condicionando que unas mujeres la transmitan o no a sus recién nacidos y le causen o no enfermedad.

La autorización para la participación de su recién nacido en este estudio es completamente voluntaria, depende sólo de usted y del padre de su hijo. Por favor, lean usted y el padre de su hijo a detalle y detenidamente la información que le estamos proporcionando y hagan todas las preguntas que les parezcan necesarias antes de decidir si desean o no autorizar la participación de su recién nacido en este estudio.

**Procedimientos:** Si ustedes aceptan que su recién nacido participe en este estudio de investigación, a su recién nacido se le tomará una muestra con un aplicador de algodón o "cotonete" de la garganta, de alrededor del ombligo y de alrededor del ano para determinar si tiene la bacteria EGB, la cual a usted se le detectó antes. Si se detecta esta bacteria en su recién nacido, se dará aviso de esto de manera inmediata al médico tratante y su hijo será seguido de manera estrecha por un Infectólogo Pediatra durante tres meses, con visitas cada mes o antes si es necesario, además de contacto telefónico o por otros medios, para vigilarlo clínicamente. En este caso, sólo si a su hijo se le detectó la bacteria *Streptococo* del grupo B, usted y el padre de su hijo serán instruidos, utilizando un lenguaje sencillo, para la vigilancia de los datos clínicos que pueden sugerir infección por EGB. Ustedes vigilarán si su hijo presenta calentura o que se sienta frío, que esté irritable o que reaccione poco a los estímulos, que no quiera comer o tenga vómito, que tenga pausas prolongadas para respirar, que respire agitado, que se le hundán las costillas o se le abran mucho las narices al respirar, que su piel se le tome azul o con aspecto de un piso de mármol, que la mollera se le abombe, que tenga convulsiones, o que deje de mover alguna parte de su cuerpo. Si se detecta cualquiera de estas manifestaciones llevarán a su hijo inmediatamente a evaluación clínica al Servicio de Infectología en el 8º Piso de la UMAE 23 con el Dr. Amilcar Caballero Trejo. Si en base a los datos clínicos el médico sospecha que su hijo tenga infección por EGB, se realizarán de manera inmediata los estudios clínicos, de laboratorio y/o de rayos X necesarios, y se iniciará inmediatamente el tratamiento específico contra dicha bacteria, como a continuación se detalla. Los exámenes de laboratorio incluirían examen de glóbulos rojos y blancos de la sangre, estudios para evaluar si el cuerpo de su hijo está respondiendo a la infección, pruebas de sangre para valorar su azúcar y el funcionamiento de su riñón e hígado, examen de la orina, y una punción en su espalda para obtener una muestra del líquido de su médula espinal. En caso de requerirse se le tomarían también estudios de rayos X, como una radiografía de tórax y un ultrasonido a través de su mollera. También se le realizarían los estudios microbiológicos pertinentes, que incluirían cultivos de sangre, cultivo de orina, cultivo del líquido obtenido de su espalda, y dependiendo de la sospecha clínica cultivo de las flemas de la garganta o bronquios. Además se iniciaría, también de manera inmediata, el tratamiento específico contra la bacteria EGB indicado por el Infectólogo Pediatra y que consistiría, entre otras cosas, de la administración de antibióticos como cefotaxima, ceftriaxona, ampicilina, amikacina, gentamicina u otros, los cuales serían administrados a las dosis pediátricas recomendadas para la edad y peso de su hijo.



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

Si usted autoriza la participación de su hijo en esta investigación, usted también autoriza que los resultados obtenidos sean registrados en una base de datos para los propósitos de este estudio: Conocer la frecuencia con la que esta bacteria es transmitida de la mujer embarazada a su recién nacido y conocer si existen características de la mujer embarazada, del embarazo, del parto y del Estreptococo del grupo B que se relacionen con la presencia de esta bacteria y con su paso al recién nacido y el desarrollo de enfermedad. Esto en un futuro podría ayudar a los médicos a establecer si todas las mujeres embarazadas deben ser estudiadas para detectar esta bacteria, y si se justifica o no la administración de tratamiento antibiótico a ella y a su recién nacido.

**Posibles riesgos y molestias:** Si usted autoriza la participación de su hijo en esta investigación, su hijo puede sentir molestia al tomarle la muestra con el aplicador de algodón o "cotonete" en la garganta, alrededor del ombligo y alrededor de su ano. Los investigadores harán todo lo posible por minimizar estos riesgos y molestias.

**Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:** 1) Usted no recibirá ninguna remuneración económica al autorizar la participación de su recién nacido en este estudio, y su participación no implicará ningún gasto extra. 2) En el momento en el que se detectó EGB en usted se informó inmediatamente al médico responsable de su tratamiento. De la misma manera, si usted da su consentimiento para que su hijo participe en esta investigación, y a su hijo se le detecta la bacteria EGB se informará inmediatamente al médico responsable, quien junto con uno de los investigadores participantes Infectólogo Pediatra iniciarán la vigilancia clínica estrecha de su hijo. 3) Si se detecta EGB en su recién nacido, éste estará en vigilancia clínica estrecha para detectar de manera temprana si desarrolla o no enfermedad por esta bacteria y así iniciar tratamiento rápido y oportuno. 4) Si durante la vigilancia clínica su recién nacido presenta síntomas que sugieran infección por EGB, se realizarán de manera inmediata todos los estudios de laboratorio y de rayos X necesarios, y se iniciará también de manera inmediata tratamiento con los antibióticos adecuados.

**Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:** Durante el transcurso de este estudio le informaremos de cualquier hallazgo nuevo, sea bueno o malo, que sea importante para la decisión de que su hijo participe o continúe participando en este estudio; por ejemplo, si hubieran cambios en los riesgos o beneficios por la participación de su hijo en esta investigación o si hubieran nuevas alternativas de tratamiento que pudieran cambiar su opinión sobre la participación de su hijo en este estudio. Si le llegamos a proporcionar información nueva, nuevamente le solicitaremos su consentimiento para que su hijo siga participando en este estudio sólo si usted lo permite.

**Participación o retiro:** El consentimiento para la participación de su hijo en este estudio es completamente voluntario. Si usted decide que su hijo no participe, su hijo seguirá recibiendo la atención médica brindada por el IMSS a la que usted y él tienen derecho, se le ofrecerán los procedimientos establecidos dentro de los servicios de atención médica del IMSS. Es decir, que si usted decide que su hijo no participe en este estudio, su decisión no afectará su relación con el IMSS y su derecho a obtener los servicios de salud u otros servicios que como derechohabiente recibe del IMSS. Si en un principio usted da su consentimiento para que su hijo participe en el estudio y posteriormente cambia de opinión, su hijo puede abandonar el estudio en cualquier momento sin que esto modifique de ninguna manera los beneficios que usted y su recién nacido tienen como derechohabientes del IMSS.

**Privacidad y confidencialidad:** Para garantizar su privacidad, la información que nos proporcione que pudiera ser utilizada para identificarla a usted y a su hijo, como nombre, teléfono y dirección, será guardada de manera confidencial y por separado, al igual que los resultados de los estudios clínicos, de laboratorio y rayos X obtenidos en esta investigación. Los investigadores y los médicos de la UMAE No. 23 que están a cargo de la atención médica de usted y su hijo, sabrán que usted está participando en este estudio. Nadie más tendrá acceso a la información que usted nos proporcione durante su participación en este estudio, al menos que usted así lo desee. Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias no se dará información que pudiera revelar su identidad, la cual será protegida y ocultada, por lo que le asignaremos un número que utilizaremos para identificarle en nuestras bases de datos.

**Debido a que en este estudio se le tomarán a su hijo muestras de material biológico, como las muestras para cultivo de la bacteria Estreptococo del grupo B, usted debe decidir si autoriza o no la toma de dichas muestras, y si autoriza la toma de las muestras usted debe decidir si autoriza el uso de las mismas sólo para los fines de este estudio o si autoriza su empleo para este estudio y estudios posteriores. Estas muestras corresponden a la bacteria Estreptococo del grupo B si es encontrada en su hijo. Si usted autoriza el uso de dicha bacteria para estudios posteriores, los investigadores guardaran la bacteria durante cinco años para realizar diversos estudios microbiológicos y genéticos con dicha bacteria. Siéntase libre de tomar la decisión que considere mejor para usted. Por favor marque con una X una de las opciones que se presentan abajo (únicamente debe indicar la opción que usted decida):**

- No autorizo que se tomen las muestras.
- Sí autorizo que se tomen las muestras solo para este estudio.
- Sí autorizo que se tomen las muestras para este estudio y su empleo para estudios futuros.

**En caso de dudas o aclaraciones sobre el estudio podrá dirigirse a:**

**Investigador responsable y colaboradores:** En caso de que usted o el padre de su hijo tengan alguna duda acerca del estudio en el que su hijo se encuentra participando o sobre sus derechos o trato que debe o está recibiendo, o sobre el sitio



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

al cual debe dirigirse en caso de requerir atención médica, comunicarse de lunes a viernes de 7:30 a 14:00 horas con los investigadores Dr. Amílcar Caballero Trejo o Dra. Evangelina Briones Lara al teléfono (01-81) 83-71-41-00 ext. 41713 o con el Investigador Responsable Dr. Gerardo del Carmen Palacios Saucedo al teléfono (01-81) 83-71-41-00 ext. 41315, o con el Médico que fue encargado de obtener el consentimiento informado Dr. \_\_\_\_\_, al teléfono \_\_\_\_\_, o bien puede dirigirse a cualquiera de los siguientes correos electrónicos: [dramilcabcaballero@hotmail.com](mailto:dramilcabcaballero@hotmail.com) o [evangelina.briones@imss.gob.mx](mailto:evangelina.briones@imss.gob.mx) o [gerardo.palacios@imss.gob.mx](mailto:gerardo.palacios@imss.gob.mx).

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos o los derechos de su hijo como participantes en esta investigación podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la Comisión Nacional de Investigación Científica (CNIC) del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4º piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores, México, D.F., CP 06720. Teléfono 01 (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: [comision.etica@imss.gob.mx](mailto:comision.etica@imss.gob.mx)

**Declaración de consentimiento informado:** Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído o alguien me ha leído el contenido de este formato de consentimiento. Se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato. Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de la madre

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del padre

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma

\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma

Clave: 2810-009-013

Instituto Mexicano del Seguro Social  
 UMAE Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 23

**FORMATO DE RECOLECCION DE DATOS**

**Título del proyecto de investigación:** "Epidemiología clínica y molecular de la infección perinatal por *Streptococo* grupo B en una unidad médica de tercer nivel de atención del noreste de México"

**Datos de la mujer embarazada:**

Nombre: Apellido Paterno \_\_\_\_\_ Apellido Materno \_\_\_\_\_ Nombres (s) \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_ años Afiliación: \_\_\_\_\_

Dirección: Calle y No. \_\_\_\_\_ Colonia \_\_\_\_\_

Municipio \_\_\_\_\_ Estado \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_

Lugar de nacimiento de los abuelos: Municipio \_\_\_\_\_ Estado \_\_\_\_\_

**Estrato socio-económico:** Escala de Graffar-Méndez Castellano

Variables	Puntaje	Items
1. Profesión del Jefe de Familia	1	Profesión Universitaria, financieras, banqueros, comerciantes, todos de alta productividad, Oficiales de las Fuerzas Armadas (si tienen un rango de Educación Superior)
	2	Profesión Técnica Superior, medianos comerciantes o productores
	3	Empleados sin profesión universitaria, con técnica media, pequeños comerciantes o productores
	4	Obreros especializados y parte de los trabajadores del sector informal (con primaria completa)
	5	Obreros no especializados y otra parte del sector informal de la economía (sin primaria completa)
2.- Nivel de instrucción de la madre	1	Enseñanza Universitaria o su equivalente
	2	Técnica Superior completa, enseñanza secundaria completa, técnica media
	3	Enseñanza secundaria incompleta, técnica inferior
	4	Enseñanza primaria, o alfabeta (con algún grado de instrucción primaria)
	5	Analfabeta
3.-Principal fuente de ingreso de la familia	1	Fortuna heredada o adquirida
	2	Ganancias o beneficios, honorarios profesionales
	3	Sueldo mensual
	4	Salario semanal, por día, entrada a destajo
	5	Donaciones de origen público o privado
4.- Condiciones de alojamiento	1	Vivienda con óptimas condiciones sanitarias en ambientes de gran lujo
	2	Viviendas con óptimas condiciones sanitarias en ambientes con lujo sin exceso y suficientes espacios
	3	Viviendas con buenas condiciones sanitarias en espacios reducidos o no, pero siempre menores que en las viviendas 1 y 2
	4	Viviendas con ambientes espaciosos o reducidos y/o con deficiencias en algunas condiciones sanitarias
	5	Rancho o vivienda con condiciones sanitarias marcadamente inadecuadas

Estrato	Total de Puntaje Obtenido
Estrato I	4, 5, 6
Estrato II	7, 8, 9
Estrato III	10, 11, 12
Estrato IV	13, 14, 15, 16
Estrato V	17, 18, 19, 20

Seleccione el resultado: Puntaje: \_\_\_\_\_

Estrato I Alto (4-6)	Estrato IV Pobreza relativa (13-16)
Estrato II Medio alto (7-9)	Estrato V Pobreza crítica (17-20)
Estrato III Medio medio y medio bajo (10-12)	

**Antecedentes ginecobstétricos:**

G \_\_\_\_ P \_\_\_\_ C \_\_\_\_ A \_\_\_\_

Corioamnionitis previa: Si ( ) No ( )

Infecciones de vías urinarias previas: Si ( ) No ( ) ¿Cuántas por EGB? \_\_\_\_\_

Infección por EGB en productos previos: Si ( ) No ( ) ¿Cuántos hijos con infección por EGB? \_\_\_\_\_

**Datos ginecobstétricos actuales:**

Corioamnionitis actual: Si ( ) No ( )

Infección de vías urinarias actual: Si ( ) No ( ) ¿Por EGB? Si ( ) No ( ) Se desconoce ( )

Fiebre: Si ( ) No ( ) Grados: \_\_\_\_\_  
 Ruptura prematura de membranas: Si ( ) No ( ) Tiempo de ruptura de membranas: \_\_\_\_\_ horas  
 Vía de nacimiento: vaginal ( ) abdominal ( )  
 Tipo de parto: distócico o eutócico Parto pre-término: Si ( ) No ( )  
 Diabetes tipo 2: Si ( ) No ( ) Diabetes gestacional: Si ( ) No ( )  
 Obesidad: Si ( ) No ( ) IMC: \_\_\_\_\_ kg/m<sup>2</sup>  
 Glucosa: \_\_\_\_\_ mg/dl  
 Hemoglobina: \_\_\_\_\_ %  
 Triglicéridos: \_\_\_\_\_ mg/dl  
 HDL: \_\_\_\_\_ mg/dl  
 Presión arterial: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ mm/Hg

**Datos sobre factores genéticos:**

Antecedentes en los progenitores de: Diabetes tipo 2 / Obesidad / Hipertensión Arterial ¿En quién? Madre / Padre / Ambos  
 Edad de los progenitores al momento del inicio: Madre: \_\_\_\_\_ años Padre: \_\_\_\_\_ años  
 Lugar de nacimiento de los abuelos: Abuelo P \_\_\_\_\_ Abuela P \_\_\_\_\_ Abuelo M \_\_\_\_\_ Abuela M \_\_\_\_\_  
 Grupo ABO: \_\_\_\_\_ Rh: \_\_\_\_\_ HLA: \_\_\_\_\_

**Colonizada por estreptococo del Grupo B:** Si ( ) No ( )

**Características del EGB aislado (colonización materna):** Serotipo: \_\_\_\_\_ Tipo clonal: \_\_\_\_\_ Síntesis de polisacárido \_\_\_\_\_ µg/dl

**Datos del producto:**

Estado al nacer: \_\_\_\_\_  
 Nombre: \_\_\_\_\_  
 Fecha de nacimiento (dd/mm/aa): \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Edad: \_\_\_\_\_ (días) Sexo: \_\_\_\_\_  
 Edad gestacional: \_\_\_\_\_ semanas  
 Asfixia al nacimiento: Si ( ) No ( ) Apgar al nacer y a los 5 minutos: \_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Peso al nacer: \_\_\_\_\_ gramos Bajo peso al nacer: Si ( ) No ( )  
**Colonizado por estreptococo del Grupo B:** Si ( ) No ( )

**Características del EGB aislado (colonización producto):** Serotipo: \_\_\_\_\_ Tipo clonal: \_\_\_\_\_ Síntesis de polisacárido \_\_\_\_\_ µg/dl

**Seguimiento:**

	Fecha (dd/mm/aa)	Edad del producto (días)	Hallazgos en el producto y/o en la madre:
1ª Consulta	____/____/____	____	_____
2ª Consulta	____/____/____	____	_____
3ª Consulta	____/____/____	____	_____
4ª Consulta	____/____/____	____	_____
5ª Consulta	____/____/____	____	_____

Estado del producto al final del seguimiento: \_\_\_\_\_

**La mujer desarrolló enfermedad relacionada a EGB:** Si ( ) No ( ) ¿Cuál? \_\_\_\_\_

**El RN desarrolló enfermedad grave relacionada a EGB:** Si ( ) No ( )

¿Cuál? Meningitis/ Neumonía/Sepsis Otra \_\_\_\_\_ ¿Cuándo (dd/mm/aa)? \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Edad de inicio si presentó enfermedad grave: \_\_\_\_\_ días Resultado de la enfermedad: \_\_\_\_\_

¿Se aisló EGB? Si ( ) No ( ) ¿De dónde? Sangre \_\_\_\_\_ LCR \_\_\_\_\_ Otro \_\_\_\_\_

**Características del EGB aislado (enfermedad producto):** Serotipo: \_\_\_\_\_ Tipo clonal: \_\_\_\_\_ Síntesis de polisacárido \_\_\_\_\_ µg/dl

Observaciones \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Nombre del investigador \_\_\_\_\_

---

## 1. Protocolo de Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PFGE) para el *Streptococcus agalactiae*.

**\*Para realizar la PFGE es necesario que el microorganismo se encuentre en la fase log\***

1. Cultivar el *Streptococcus agalactiae* en agar sangre por 18hrs a 37°C.
2. Transcurridas las 18hrs. Tomar de 3-5 colonias y re-sembrar en tubos con 3ml de agar cerebro corazón (BHI) + extracto de levadura en una proporción 1:1.  
**\*El medio no se debe de poner turbio con la asada\***
3. Incubar en CO<sub>2</sub> a 37°C por 2hrs para permitir que el *S. agalactiae* entre en fase log.  
**\*A partir de este punto la muestra se debe de mantener en hielo\***
4. Pasar el cultivo a un tubo Falcon de 15ml y centrifugar por 20 minutos a 4, 500rpm; a 4°C.

Revoluciones x minuto (rpm)	Minutos
4, 000	25
4, 500	20
5, 000	15

5. Retirar el sobrenadante con una pipeta Pasteur teniendo mucho cuidado de no destruir el pellet bacteriano.
6. Re-suspender el pellet en 1ml del buffer PIV (antes de utilizar el buffer PIV dejar una noche antes a 4°C).
7. Pasar la suspensión bacteriana a un tubo Eppendorf y poner en centrifuga refrigerada por 10 minutos a 4, 000rpm.
8. Retirar el sobrenadante teniendo cuidado de no deshacer el pellet bacteriano.
9. Re-suspender el sobrenadante con 200ml de buffer PIV y llevar al Vortex para homogenizar.

### 10. Leer en el espectrofotómetro:

Adicionar a la celda:

- 1ml de PIV.
- 5µl del pellet re-suspendido.

\*Homogenizar por inversión, procurando no crear burbujas.

---

**Rango valido.**

**OD= 0.05-0.25**

→ Rango

---

Ajustar la densidad óptica (OD) del pellet.

\*Si no se cumple con la densidad deseada utilizar la fórmula para compensar.

$\text{OD} \times 40 \times 240 - 240 = \frac{\quad}{\quad}$ <p style="text-align: center;">Cantidad necesaria de buffer PIV que se debe de agregar para ajustar la OD a 5.</p>
---

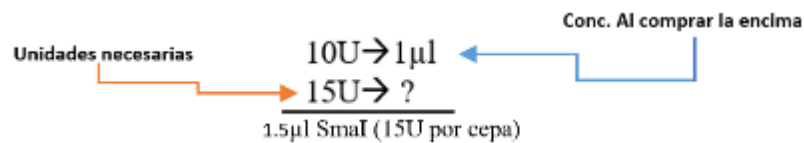
11. Llevar al Vortex para homogenizar, después de esto tomar 150µl y llevar a un tubo Eppendorf.
12. Dejar atemperar en un baño Maria (42°C) por 1 minuto (el tiempo en que se tarde en realizar los discos).
13. Agregar al tubo Eppendorf 150µl de Agarosa al 1.5%, para después homogenizar en el Vortex.
14. Tomar 20µl de la mezcla con una micropipeta, después depositar los 20µl en la base de vidrio, una vez realizado los discos deseados, cubrir con un portaobjetos.
15. Incubar los discos a -20°C por 5 minutos (\*no pasar del tiempo de incubación porque el riesgo de destruir los discos aumenta).
16. Preparar en un tubo el siguiente Mix:

Reactivo	Cantidad por cepa
Buffer EC	1 ml
RNAasa	5 µl
Lisozima	1 µl

Mezclar por inversión.

17. Tomar 1ml del mix al tubo Eppendorf (1ml por cepa=1 tubo por cepa).
18. Después de haber transcurrido los 5 minutos de incubación a -20°C, los discos se retiran de la base de vidrio, retirando con mucho cuidado el portaobjetos, comenzando por los lados laterales para evitar así, que estos se rompan.
  - a. Una vez retirado el portaobjetos se escogen de 4-6 discos, estos deberán estar lo más enteros posibles y no contar con burbujas.
19. Los discos seleccionados se depositan en el Mix previo (asegurándose que ninguno se quede en las paredes del tubo).

20. Incubar los discos a 37°C por 3hrs.
21. Transcurrido el tiempo de incubación, decantar a través de una gasa para eliminar el sobrenadante, después de esto dar unos pequeños golpeteos al tubo para asegurarse que ningún disco se quede en la gasa.
22. Agregar al tubo 1ml de Buffer ES + Proteinasa K (0.001gr x cepa/ml).
23. Dejar en incubadora o en baño Maria a 50°C durante toda la noche (mínimo por 17hrs).
24. Realizar el lavado de los discos una vez cada hora durante 5 horas. Para realizar esto se decanta el sobrenadante a través de una gasa para evitar la pérdida de los discos.
25. Después de cada lavado, re-suspender los discos en 15ml de TE y dejar en agitación durante 1 hora.
26. Pasar un disco a un tubo Eppendorf con 200µl de TE (este será el disco a utilizar).  
\*Los discos que no se utilizaran se guardan en un tubo Eppendorf con 500µl de TE a 4°C
27. **Equilibrar los discos.**



**Ejemplo:** Si se tienen 7 cepas por correr:  
 $1.5\mu l \text{ de SmaI} \times 7 \text{ muestras (discos)} = 10.5\mu l \text{ de SmaI}$ .

28. Desechar el buffer TE (usar pipeta), después de esto agregar a cada tubo 300µl del **\*buffer pre-SmaI**.
29. **Restricción de los discos.**  
Retirar el buffer pre-SmaI (con pipeta) y agregar 50µl de mezcla pre-SmaI + SmaI.

**Ejemplo:** Se tienen 7 cepas  $7 \times 50\mu l = 350\mu l$  del mix.

$$350\mu l \text{ del mix} - 10.5\mu l \text{ SmaI} = 339.5\mu l \text{ pre SmaI} + 10.5\mu l \text{ SmaI}$$

30. Incubar a 25° por 17hrs (en baño Maria o incubadora).



- 
31. Transcurridas las 17hrs de incubación se agrega el **buffer de carga**, pasar inmediatamente a hielo.
  32. Antes de realizar el gel **preparar la cámara**:
    - a. Antes de utilizarla se debe de poner a correr el agua bidestilada (agua miliQ de preferencia) por 10 minutos.
    - b. Después de esto se lava la cámara dos veces.
  33. **Preparar un gel de agarosa** al 1x.
  34. Colocar los discos en los pocillos del gel (un pocillo por disco) usando un cubreobjetos como base para introducirlos. SI es necesario utilizar un asa de plástico para acomodar los discos.
  35. Se corta el marcador molecular del mismo tamaño que los discos y se coloca en el gel.
  36. Por último, sellar los pocillos con un poco de agarosa 1x (aproximadamente 5ml), de lo contrario estos se pueden salir en el proceso de corrimiento.
  37. Antes de colocar el gel en la base de la cámara se debe de asegurar que este no tenga ningún resto de agarosa en los bordes.
  38. Agregar 3 litros de buffer TBE .5x
  39. El **programa de corrimiento** es el siguiente:

Correr el gel por 21horas a 14°C, 6.0 V/cm, utilizando un intervalo de tiempo entre pulsos inicial de 3' y un pulso final de 55'. Con un ángulo de 120°.
  40. Una vez terminado el programa de corrimiento quitar el gel de la base y desechar el buffer y realizar dos lavados (no se utiliza ningún programa de corrimiento solo se necesita tener la bomba encendida).

El gel se tiñe con bromuro de etidio, en agitación por 30 minutos, para su posterior visualización.

---

2. **Constancia por la capacitación de la técnica de Electroforesis en Gel de Campos Pulsados (PFGE).**

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA,  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN SOBRE ENFERMEDADES INFECCIOSAS (CISEI)

Otorga la presente:

**Constancia**

**A la: QBP. Karla Mariana Leal Olvera.**

por la estancia realizada del 3 al 14 de Julio del 2017 en el laboratorio de Resistencia Bacteriana como parte de las actividades académicas y de colaboración institucionales.



**Dr. Jesús Silva Sánchez**

Centro de Investigación Sobre Enfermedades Infecciosas (CISEI)  
Jefe del Grupo de Resistencia Bacteriana  
Instituto Nacional de Salud Pública

3. **Certificado de participación en la capacitación en el Manejo del sistema Mapper  
XA.**



BIO-RAD LABORATORIES

# 2017 Certificado de Participación

Otorga la presente constancia a

**QBP. Karla Mariana Leal Olvera**

Por haber participado en la capacitación:

"Manejo del sistema CHEF Mapper XA"

que se llevó a cabo los días 14 y 15 de Noviembre del 2017 en las instalaciones del UMAE Hospital de Especialidades No. 25, IMSS de Monterrey, Nuevo León con duración aproximada de 9 hrs.

M. en C. Javier Martínez Ortiz  
Especialistas de Aplicaciones Bio-Rad México



---

### **XIII. RESUMEN BIOGRÁFICO**

#### **Q.B.P. Karla Mariana Leal Olvera**

Candidato para el grado de  
Maestro en Ciencias con Orientación en Inmunobiología

**Tesis:** “EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR E IDENTIFICACIÓN DE SEROTIPOS DEL ESTREPTOCOCO DEL GRUPO B, EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL DE ATENCIÓN DEL NORESTE DE MÉXICO.”

**Campo de estudio:** Ciencias de la Salud

**Datos personales:** Nacida en Monterrey, Nuevo León el 19 de Noviembre de 1991, hija de María Antonieta Olvera Hernández y Rogelio Pablo Leal Rodríguez.

**Educación:** Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León , grado obtenido de Químico Bacteriólogo Parasitólogo.

**Experiencia profesional:** Estancia en el Departamento de Microbiología en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, como parte del entrenamiento en el cultivo e identificación de microorganismos vaginales en el año 2015. Capacitación y estancia en el Laboratorio de Resistencia bacteriana del Instituto Nacional de Salud Pública en el procedimiento de Electroforesis en Gel de Campos pulsados.