

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**EPIDEMIOLOGÍA Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE AISLADOS CLÍNICOS  
DE *Streptococcus agalactiae* DE UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL EN EL NORESTE  
DE MÉXICO**

**POR**

**LCA. JOSÉ ALFREDO GONZÁLEZ NAVARRO**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO  
EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN INMUNOBIOLOGÍA**

**2021**

**EPIDEMIOLOGÍA Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE AISLADOS  
CLÍNICOS DE *Streptococcus agalactiae* DE UN HOSPITAL  
DE TERCER NIVEL EN EL NORESTE DE MÉXICO**

**Comité de Tesis**



---

Dra. Lydia Guadalupe Rivera Morales  
Presidente



---

Dra. Itza Eloisa Luna Cruz  
Secretario



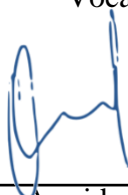
---

Dra. Cristina Rodríguez Padilla  
Vocal



---

Dr. José Manuel Vázquez Guillén  
Vocal



---

Dr. Moises Armides Franco Molina  
Vocal



---

Subdirector de Posgrado  
Dra. Katiushka Arévalo Niño

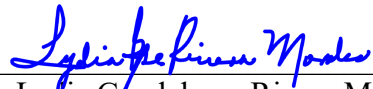


SUBDIRECCIÓN  
DE POSGRADO

**EPIDEMIOLOGÍA Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE AISLADOS  
CLÍNICOS DE *Streptococcus agalactiae* DE UN HOSPITAL  
DE TERCER NIVEL EN EL NORESTE DE MÉXICO**

El presente trabajo de investigación fue desarrollado en la Unidad de Infectología Molecular del Laboratorio de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas y la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) No. 25 del Instituto Mexicano del Seguro Social, bajo la dirección de la Dra. Lydia Guadalupe Rivera Morales y del Dr. Gerardo del Carmen Palacios Saucedo.

**Dirección de tesis**



---

Dra. Lydia Guadalupe Rivera Morales  
Directora de tesis



---

Dr Gerardo del Carmen Palacios Saucedo  
Director externo

DERECHOS RESERVADOS©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

## **Financiamiento**

El presente trabajo fue financiado parcialmente por el Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica (PAICYT) clave No. SA1591-21, responsable Dra Lydia Guadalupe Rivera Morales) de la Secretaría de Investigación y Desarrollo Tecnológico de la UANL.

Este trabajo fue financiado por el Fondo de Investigación en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) (FIS/IMSS/PROT/PRIO/15/047, 2015). El Dr. Gerardo C. Palacios Saucedo recibe Beca de Excelencia en Investigación otorgada por la Fundación IMSS, A.C.

## **LUGAR DE TRABAJO**

El presente trabajo fue desarrollado en:

- El Laboratorio de Inmunología y Virología del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L. bajo la dirección del Dra. Lydia Guadalupe Rivera Morales
- La Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Especialidades No. 25 del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) del I.M.S.S, Monterrey, Nuevo León, México con el Dr. Gerardo C. Palacios Saucedo como Director Externo.

El presente trabajo se realizó gracias a las facilidades prestadas por el **Laboratorio de Inmunología y Virología** de la Facultad de Ciencias Biológicas – UANL.



## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Comité Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo brindado como becario de la Maestría en Ciencias con orientación en Inmunología, para la realización y obtención de este grado.

A la Dra. Cristina Rodríguez Padilla, por brindarme la oportunidad de pertenecer al LIV y permitirme continuar mi camino profesional.

A la Dra. Lydia Rivera Morales, por abrirme las puertas de su laboratorio, por su apoyo en todo momento, por su paciencia, y por compartir su conocimiento conmigo.

Al Dr. José Manuel Vázquez Guillén, por su amistad, por animarme en los momentos más difíciles y por siempre tener palabras de aliento.

Al Dr. Gerardo Palacios Saucedo, por la confianza de encomendarme este gran proyecto, por su entusiasmo, su paciencia y por guiarme en el camino de la investigación.

A Geovanna Herrera por su apoyo, su amistad y por ayudarme a sobrellevar los obstáculos que se presentaban en el camino.

A Luciana por ser una pieza importante para culminar este proyecto y por su apoyo incondicional.

A Liz y Zacarias por ser muy buenos compañeros de laboratorio y amigos.

A María, Rodrigo, Sofía, Aldo, Alondra y Cristy por su amistad y apoyo.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Rafael González y María Guadalupe Navarro, por su apoyo incondicional desde el comienzo de mi vida, por su constante preocupación e interés en que lograra realizar mis objetivos, mis actividades y proyectos, por sus palabras de aliento y sus consejos, por nunca dejarme solo y siempre estar ahí para mí.

A mis abuelos Alfredo, Josefina, Esperanza y Chago que siempre me han apoyado incondicionalmente.

A mis hermanos, Alejandro, Valeria y Rafa, por todo el tiempo que hemos pasado juntos y el que estaremos durante toda la vida.

A mis sobrinos Issac, Alfredo, Favio, Rafa y Selina por alegrar mis días.

# ÍNDICE

ÍNDICE.....	I
ÍNDICE DE TABLAS.....	III
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS.....	V
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT.....	VII
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Género <i>Streptococcus</i> .....	3
2.2 Clasificación de <i>Streptococcus</i> .....	3
2.3 <i>Streptococcus agalactiae</i> y sus características .....	4
2.4 Identificación de EGB.....	6
2.5 Epidemiología mundial .....	7
2.6 Distribución de los serotipos.....	7
2.7 Epidemiología en México.....	8
2.8 Manifestaciones clínicas.....	9
2.9 Colonización materna.....	10
2.10 Transmisión neonatal.....	11
2.11 Patogénesis.....	12
2.12 Diagnóstico .....	13
2.13 Tratamiento.....	16
2.14 Biofilm.....	17
2.15 Resistencia a antibióticos.....	18
2.16 Clonalidad.....	19
3. JUSTIFICACIÓN.....	20

4. HIPÓTESIS.....	21
5. OBJETIVO.....	22
5.1 Objetivos específicos.....	22
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	23
6.1. Diseño del estudio.....	23
6.2. Muestreo.....	24
6.3 Aislamiento e identificación de EGB.....	24
6.4 Serotipificación.....	26
6.5 Electroforesis de campos pulsados.....	26
6.6 Resistencia a antibióticos.....	27
6.7 Determinación de producción de Biofilm.....	27
6.8 Análisis estadísticos.....	28
7. RESULTADOS.....	30
8. DISCUSIÓN.....	41
9. CONCLUSIONES.....	46
10. PERSPECTIVAS .....	47
6. BIBLIOGRAFÍA.....	48

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Título	Página
1	Prevalencia de colonización ocasionada por EGB en mujeres embarazadas. Reporte de estudios mexicanos	8
2	Características sociodemográficas y gineco-obstétricas de 1924 mujeres embarazadas de acuerdo con el estado de colonización por Estreptococo del grupo B (EGB).	31
3	Comparación múltiple de Tukey utilizando la absorbancia del ensayo de CV comparando los promedios de cada serotipo.	35
4	Nivel de resistencia a los antibióticos de aislado de EGB	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Carbohidrato del <i>Streptococcus</i> del Grupo B	5
2	Estructura de los 10 diferentes tipos de polisacárido capsular de EGB	6
3	Prevalencia de muestras positivas de EGB en mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación.	30
4	Prevalencia de los serotipos obtenidos de EGB en mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación representado en número de muestras.	32
5	Absorbancias obtenidas a partir del ensayo de CV en cada cepa de los distintos serotipos de EGB a una absorbancia de 595nm	33
6	Clasificación de tipo de productores de biofilm mediante el ensayo de CV en cada cepa de los distintos serotipos de EGB a una absorbancia de 595nm	34
7	Dendograma de los patrones de bandas obtenidos mediante PFGE.	40

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

EGB	Estreptococcus del grupo B
UMAE	Unidad médica de alta especialidad
PFGE	Electroforesis de campos pulsados
PAI	Profilaxis antibiótica intraparto
CPS	Polisacárido capsular
NT	No tipificable
MLST	Tipificación de secuencias multilocus
ST	Subtipo
CC	Complejo clonal
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
CDC	Center for Disease Control and Prevention
EOD	Enfermedad de inicio temprano
LOD	Enfermedad de inicio tardío
VLOD	Enfermedad de inicio tardío-tardío
Sdg	Semanas de gestación
THB	Caldo Todd-Hewitt
qPCR	PCR cuantitativa
RCOG	Royal College of Obstetricians and Gynecologists
Alp	Alpha-like protein
Rib	Rib-like protein
DO	Densidad óptica
DOc	Corte de densidad óptica
CV	Cristal violeta
RM	Razón de momios

## RESUMEN

El *Streptococcus* del Grupo B (EGB) o *Streptococcus agalactiae* es una bacteria que coloniza la vagina de mujeres embarazadas y en algunos casos puede causar infecciones y complicaciones durante el parto, tanto en la mujer como en el recién nacido. En el noreste de México no se ha descrito la prevalencia de este patógeno en mujeres embarazadas ni en neonatos. Para generar información epidemiológica relevante se evaluó la prevalencia de EGB y se caracterizaron los aislados en embarazadas. Se utilizó un estudio analítico transversal para evaluar los factores sociodemográficos, hereditarios familiares, gineco-obstétricos y genéticos de gestantes colonizadas por *S. agalactiae*. Para el muestreo se usaron hisopados vagino-rectales de mujeres embarazadas entre las 35 y 37 semanas de gestación y se aislaron las bacterias usando agar sangre y Chromagar StrepB. Su presencia se confirmó mediante el uso de pruebas bioquímicas y la serotipificación mediante el uso de aglutinación en látex contra cada serotipo. Una vez aislados, se midió la producción de biofilm de cada cepa mediante la técnica de microtitulación y se determinó la resistencia a los antibióticos con el equipo VITEK 2 y la técnica de difusión en disco. Se estudiaron 1924 muestras de mujeres embarazadas, de las cuales 52 (2,27%) resultaron positivas. El serotipo más común fue el serotipo II con 19.2% (10), seguido de III y IV con 17.4% (9) mientras que los serotipos Ia, Ib V, VIII y cepas no tipificables (NT) fueron menos comunes. En el caso de los recién nacidos, encontramos dos muestras positivas dentro de las 52 madres colonizadas, correspondientes a los serotipos VIII y V. Ni las madres ni los recién nacidos presentaron síntomas de infección en ninguna de sus manifestaciones clínicas. En la producción de biopelículas, la mayoría de las cepas tienen una producción débil y algunas producen biopelículas moderadas. Los serotipos II, III, V y VIII fueron resistentes a tetraciclina, y también se encontró una cepa de serotipo III que, además de ser resistente a tetraciclina, presentó resistencia a levofloxacino, moxifloxacino, eritromicina y clindamicina. Mientras que en el análisis de electroforesis de campos pulsados se obtuvo que la mayoría de los aislados son cepas diferentes, ya que presentan un diferente patrón de bandas, sin embargo, una de las cepas no tipificables pertenece al mismo complejo clonal que las cepas del serotipo VIII, pudiendo indicar que pudiera pertenecer a este serotipo.

## ABSTRACT

Group B Streptococcus (GBS) or *Streptococcus agalactiae* is a bacterium that colonizes the vagina of pregnant women and in some cases can cause infections and complications during childbirth, both in the woman and in the newborn. In northeastern Mexico, the prevalence of this pathogen in pregnant women or neonates has not been described. To generate relevant epidemiological information, the prevalence of GBS was evaluated and the isolates were characterized in pregnant women. A cross-sectional analytical study was used to evaluate the sociodemographic, family hereditary, gynecological-obstetric and genetic factors of pregnant women colonized by *S. agalactiae*. Vagino-rectal swabs from pregnant women between 35 and 37 weeks of gestation were used for sampling and bacteria were isolated using blood agar and Chromagar StrepB. Its presence was confirmed by using biochemical tests and serotyping using specific antisera against each serotype. Once isolated, the biofilm production of each strain was measured using the microtiter technique and resistance to antibiotics was determined with the VITEK 2 equipment and the disk diffusion technique. 1924 samples of pregnant women were studied, of which 52 (2.27%) were positive. The most common serotype was serotype II with 19.2% (10), followed by III and IV with 17.4% (9) while serotypes Ia, Ib V, VIII and nontypeable strains (NT) were less common. In the case of newborns, we found two positive samples within the 52 colonized mothers, corresponding to ser VIII and V. Neither the mothers nor the newborns presented symptoms of infection in any of its clinical manifestations. In biofilm production, most strains have weak production and some produce moderate biofilms. Serotypes II, III, V and VIII were resistant to tetracycline, and a serotype III strain was also found that, in addition to being resistant to tetracycline, presented resistance to levofloxacin, moxifloxacin, erythromycin and clindamycin. While in the pulsed field electrophoresis analysis it was obtained that most of the isolates are different strains, since they present a different pattern of bands, however, one of the non-typeable strains belongs to the same clonal complex as the strains of the serotype VIII, being able to indicate that it could belong to this serotype.

## I. INTRODUCCIÓN

Estreptococcus del Grupo B (EGB) o *Streptococcus agalctiae* es un patógeno oportunista, que se encuentra colonizando de manera normal el tracto gastrointestinal y genitourinario de mujeres embarazadas. Sin embargo, en algunos casos puede causar complicaciones en el embarazo como abortos y partos pretérmino, mientras que si llega a infectar al neonato puede causarle septicemia, neumonía y meningitis que puede provocar secuelas después de la enfermedad y en algunos casos la muerte (Phares et al. 2008; Skoff et al. 2009). En muchos países, incluidos Canadá y los Estados Unidos, se realiza la búsqueda intencionada EGB en mujeres embarazadas a las 35 a 37 semanas de gestación para determinar si se realiza la profilaxis antibiótica intraparto (PAI) para las mujeres colonizadas, lo que ha conducido a la reducción de casos de enfermedad producidos por EGB (CDC, 2010). Aunque se ha reportado que la prevalencia de colonización en mujeres embarazadas de esta bacteria es de hasta el 38.7% en México, con una tasa de transmisión de 1/1500 recién nacidos y una letalidad de 38.5%, la búsqueda intencionada y la profilaxis antibiótica intraparto no se realiza. Por otra parte, la mayoría de estos estudios se han realizado en la parte sur del país por lo que no hay reportes que indiquen la prevalencia de EGB en el noreste de México (Reyna-Figueroa et al. 2007). Para que la profilaxis antibiótica intraparto tenga resultados significativos se debe conocer si las cepas presentan resistencia a antibióticos. Como primera opción para tratar a EGB se utiliza la penicilina. Como segunda opción, en caso de que las mujeres presenten alergia a este antibiótico, se utiliza la eritromicina y clindamicina. La resistencia a antibióticos es un problema que va en aumento debido uso indiscriminado que han tenido los antibióticos para tratar enfermedades. Debido a esto han surgido cepas de EGB que presentan una susceptibilidad reducida a la penicilina y que también pueden presentar resistencia a la eritromicina y clindamicina, por lo cual determinar la susceptibilidad a antibióticos que presentan los aislados de EGB es importante para una correcta profilaxis antibiótica intraparto (Manning et al. 2009). Diversos estudios han descrito que EGB presenta heterogeneidad genética a pesar de que diferentes muestras pertenezcan al mismo serotipo y se aislen de la misma población. Estas diferencias genéticas influyen en la patogenicidad que pueden tener los aislados de EGB. Las diferencias se pueden encontrar mediante la

caracterización por métodos moleculares agrupándolas como diferentes tipos clonales. Tal es el caso de subtipos como CC17 y CC19 que están relacionados con una alta patogenicidad y capacidad de causar enfermedades invasivas en neonatos. Estas cepas se han relacionado con una producción de biofilm débil que puede influir en la persistencia de la colonización, así como en la capacidad de infectar a los neonatos (Ballais et al. 2012). Por lo tanto, en este trabajo, evaluamos la prevalencia del EGB en el noreste de México en mujeres embarazadas y sus recién nacidos, la resistencia a los antibióticos, la formación de biofilm y la presencia de diferentes subtipos mediante PFGE.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 Género Estreptococo

Estreptococo, es un género de bacterias en forma de cocos gram positivos de menos de 2µm de diámetro, al crecer en un medio líquido tienden a organizarse en cadenas, son catalasa negativa, anaerobias facultativas, su temperatura óptima de crecimiento es 37°C, pero algunas bacterias del género pueden crecer en temperaturas tan bajas como 10°C. En cuanto a sus requerimientos nutricionales, pueden crecer en medio nutritivo adicionado con sangre. Su pared celular consiste principalmente de peptidoglicano con glucosamina y ácido murámico, en su superficie se pueden encontrar una variedad de carbohidratos, proteínas antigénicas, ácido teicoico y lipopolisacárido que varía en cada especie (Spellerberg y Brandt, 2015).

Algunos Estreptococos son parte de la microflora normal en humanos y animales, mientras que otras pueden causar enfermedades, desde infecciones leves y algunas graves, e incluso infecciones crónicas dependiendo del agente causal y de las características de la bacteria que cause la infección (Patterson y Hafeez, 1976). Un ejemplo de esto es *Streptococcus agalactiae* (o Estreptococcus del grupo B, EGB) que puede colonizar el tracto gastrointestinal y genitourinario, pero que en algunos casos puede causar complicaciones en los embarazos y puede llegar a causar meningitis a los neonatos (Facklam, 2002).

### 2.2 Clasificación de Streptococos

La clasificación tradicional de Estreptococos separa las diferentes especies dependiendo de la hemólisis como alfa, beta-hemolíticos y no-beta hemolíticos. Como especies beta-hemolíticas tenemos de ejemplos a *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus agalactiae*. Mientras que una de las especies no-hemolíticas es *Streptococcus dysgalactiae subsp dysgalactiae* (Spellerberg y Brandt, 2015). De igual forma se usa la clasificación de

Lancefield que clasifica a los Estreptococos usando la presencia de los antígenos capsulares A, B, C, D y E. En algunos casos la clasificación de la Dra Rebeca Lancefield un grupo puede tener más de una especie de Estreptococos, por ejemplo, en el grupo C se encuentran las especies *S. dysgalactiae subsp. dysgalactiae*, *S. dysgalactiae subsp. equisimilis*, *S. equi subsp. equi* y *S. equi subsp. zooepidemicus*.

En el caso de Estreptococos de grupo B, solo se encuentra la especie *S. agalactiae* que se caracteriza por la presencia de este antígeno, así como por ser CAMP positiva y por la hidrólisis de hipurato positiva. EGB se puede dividir en 10 serotipos dependiendo de su polisacárido capsular (CPS), cada uno consta de monosacáridos dispuestos de forma variada y un residuo de ácido siálico en el extremo ramificado de la unidad de repetición, estos presentan una diferente capacidad de evasión del sistema inmune evadiendo el sistema de complemento y la fagocitosis (Lin et al. 2018)

### **2.3 *Streptococcus agalactiae* y sus características**

*Streptococcus agalactiae* fue identificado por primera vez a finales del siglo XIX como causante de la mastitis bovina y fue diferenciado de otras especies de *Streptococcus* por Rebecca Lancefield en 1930 (Lancefield, 1933). Posteriormente Lancefield y Hare (1935) describieron la colonización vaginal de EGB en mujeres asintomáticas, no obstante, la patogenicidad de este microorganismo no fue descrita hasta 1938, en tres casos de infecciones post-parto en neonatos (Fry. 1938). La identificación de la enfermedad invasiva de EGB era raramente identificada hasta 1960, cuando el incremento de los reportes de esta enfermedad en adultos y neonatos fue publicada (Mannik et al. 1962. Eickhoff et al. 1964. Lazarus et al, 1965. Braunstein et al. 1969).

El género *Streptococcus* pertenece a la familia *Streptococcaceae* del orden de los *Lactobacilliales* del filo de los *Firmicutes*. *Streptococcus* comprende más de 100 especies reconocidas y muchas de ellas se encuentran colonizando la cavidad oral y el tracto gastrointestinal de los mamíferos. Los *Streptococcus* se pueden clasificar de acuerdo con la reacción de hemólisis (alfa, beta-hemolíticos y no beta-hemolíticos), tamaño de la colonia y la presencia de los antígenos de Lancefield. Dentro de esta clasificación

podemos encontrar al *Streptococcus agalactiae* o Estreptococcus del grupo B (EGB) que presenta el antígeno B de la clasificación de Lancefield. Esta bacteria se caracteriza por ser CAMP positivo, hidrolisis de hipurato positivo, catalasa negativa, Gram positivo, crecer en colonias de alrededor de 2mm de diámetro y presentar beta hemolisis. (Spellerberg y Brandt, 2015).

EGB posee una cápsula de carbohidratos sialilados que se sabe que es un factor de virulencia importante ya que tiene la característica de mimetizar polisacáridos en las células humanas, este es el carbohidrato del grupo B de Lancefield (Figura 1.), un antígeno anclado con peptidoglucano que define a esta especie como un Estreptococo del grupo B ya que todos la poseen y parece ser fundamental para la organización de la pared celular de *S. agalactiae* ya que, en su ausencia, la pared celular pierde su estado físico y rigidez. (Caliot et al. 2012; Feldman et al. 1998).

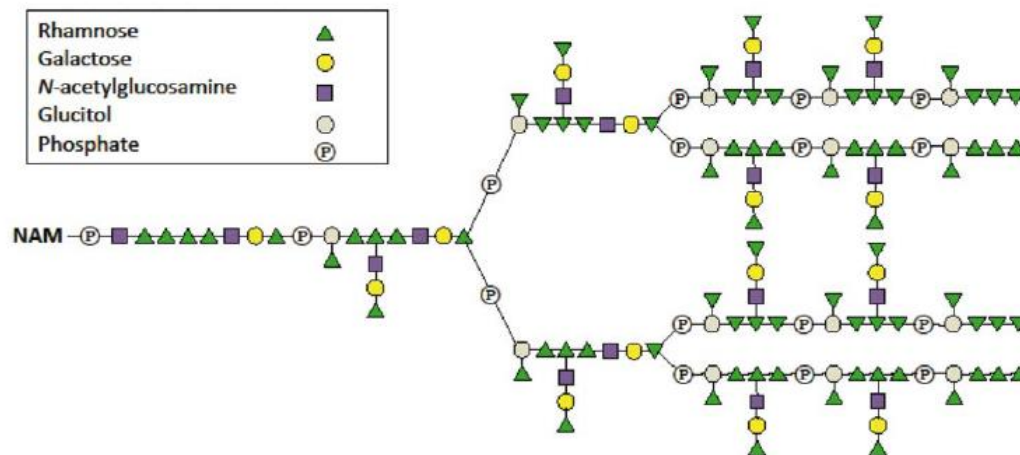


Figura 1. Carbohidrato del Estreptococcus del Grupo B (Caliot et al. 2012).

El CPS es otro de los componentes de la pared celular de EGB, hasta la fecha se han descubierto 10 diferentes tipos que diferencian a EGB en 10 serotipos, cada uno está compuesto por monosacáridos ordenados de forma variada y un residuo de ácido siálico en el extremo de cada unidad (Figura 2.). El CPS junto con el carbohidrato del grupo B de Lancefield son capaces de inhibir el sistema de complemento y la fagocitosis (Lin et al. 2018; Aoyagi et al. 2005; Macauley et al. 2014). Cada CPS es codificado por un gen

específico de cada serotipo que está presente en todas las bacterias que lo presenten (Kong et al. 2002).

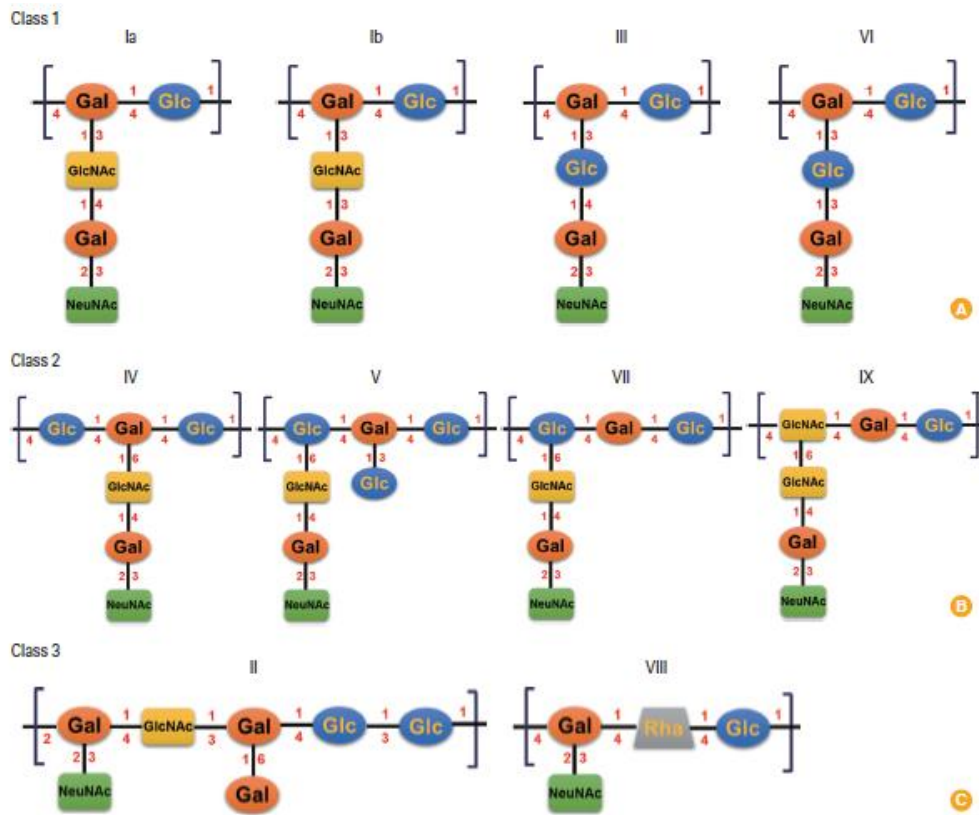


Figura 2. Estructura de los 10 diferentes tipos de polisacárido capsular de EGB. (Lin et al. 2018)

## 2.4 Identificación de EGB

Se han comparado diferentes métodos para el aislamiento y la identificación de EGB, tomando en cuenta la toma de muestra los medios de cultivo a utilizar. En el caso de la toma de muestra se ha observado que el hisopado recto-vaginal es superior al hisopado vaginal o anal por sí solos. Mientras que, durante el procesamiento de la muestra, el enriquecimiento en un caldo selectivo mejora la recuperación de EGB comparado con la siembra directa en placas de agar. (El Aila et al. 2010). Con respecto al uso del agar, se ha reportado que el uso de agares cromogénicos es igual comparándola con el uso de un enriquecimiento selectivo y una posterior siembra en este tipo de agar (El Aila et al. 2010 y Bosch et al, 2003).

En el caso de la normativa para la detección de EGB, la CDC recomienda la toma de muestra de un hisopado vaginal-rectal entre 35 y 37 semanas de gestación y su enriquecimiento en un medio selectivo como por ejemplo el medio Todd-Hewitt suplementado con gentamicina (8ug/ml) y ácido nalidíxico (15ug/ml) o colistina (10ug/ml) y ácido nalidíxico (15ug/ml), su incubación a 37°C por 24h y su posterior siembra en agar sangre suplementado con 5% de sangre de carnero o en un medio con un sustrato cromogénico para facilitar la identificación de esta bacteria. Posterior al aislado, las colonias presuntivas se identifican mediante la prueba de CAMP y la aglutinación en látex con el anticuerpo del grupo B y su serotipificación en los 10 diferentes serotipos o mediante PCR. (CDC, 2010).

## **2.5 Epidemiología mundial.**

La colonización vaginal de EGB es la vía más común para causar una infección en la madre y el neonato, y su prevalencia varía dependiendo de la región en donde se estudie. En un meta análisis realizado en 2017 se obtuvo que la prevalencia de colonización materna por EGB en todo el mundo fue del 18%, la más alta en el Caribe (34%) y la más baja en Melanesia (2%), Europa, América del Norte y Australia tuvieron una prevalencia similar (15%–21%), África Austral de 22%–29%, y una prevalencia aparentemente menor en África occidental (14%). Mientras que en América Central la prevalencia es de 7% – 14% y en el sur, sureste y en Asia oriental es de 9%–12%. La colonización por los serotipos Ia, Ib, II, III y V representa el 98% de los serotipos a nivel mundial (Russell et al. 2017; Bianchi-Jassir et al. 2017).

## **2.6 Distribución por serotipos**

La distribución global de los serotipos varía dependiendo de la localización geográfica (Schuchat, 1998). En Estados Unidos y Canadá, los serotipos Ia, Ib, II, III y V fueron los más comunes, pudiendo ser causa de la alta cantidad de casos de meningitis en enfermedad de inicio tardío. En México el serotipo más común es el Ia, en los Emiratos Árabes son el

IV y el Ia, en Egipto el V, en Malasia el Ia y el VI, mientras que en Japón son el VI y el VIII, este último serotipo se presenta raras veces en otros lugares del mundo (Shabayek y Spellerberg, 2018).

## 2.7 Epidemiología en México

A pesar de que EGB es la causa más común de infecciones graves en recién nacidos de países desarrollados, la información epidemiológica de EGB en América Latina es escasa. Los estudios epidemiológicos en México se han realizado en el centro y sur del país, datan de 1980, y reportan prevalencias de colonización que varían desde el 0.46 hasta el 38.5% (resumen en Figura 3). Cada estudio epidemiológico tiene variables metodológicas como el tipo de muestras, selección de pacientes, lugar del estudio y metodología para la detección y aislamiento de EGB, lo que hace difícil comparar los estudios y estimar una prevalencia nacional. Otro hecho fundamental es que a la fecha no se han publicado estudios epidemiológicos en el noreste de México por lo que no ha sido descrito el rol de EGB en esta región (Reyna-Figueroa et al. 2007).

Tabla 1. Prevalencia de colonización por EGB en mujeres embarazadas. Reporte de estudios mexicanos (Reyna-Figueroa et al. 2007).

**Cuadro 1.** Prevalencia de colonización ocasionada por *Streptococcus* del grupo B en mujeres embarazadas. Reporte de estudios mexicanos

Estudio	Colonizados	No colonizados	Total muestra	Prevalencia (%) <sup>a</sup>	p <sup>b</sup>
Collado y col. (1981)	8	192	200	4	0.001
Narcio y col. (1989)	5	100	105	4.8	0.04
Solórzano y col. (1990)	35	305	340	10.3	0.5
Ocampo y col. (2000)	78	832	910	8.6	0.03
González y col. (2002)	97	594	691	14	0.02
Villaseñor y col. (2004)	16	107	123	13	0.5
Romero y col. (2005)	2	431	433	0.46	0.0000
González y col. (2002)	20	78	98	20.4	0.01
Hernández y col.(2006)	19	30	49	38.7	0.0000
Total	280	2669	2949	9.5	-

<sup>a</sup> Prevalencia (%) = colonizados x 100/total de la muestra

<sup>b</sup> La p se obtuvo al comparar la cifra obtenida de este estudio (9.5%) vs la prevalencia referida en el estudio original, de manera individual mediante la prueba de la ji al cuadrado. Diferencia significativa p<0.05.

## **2.8 Manifestaciones clínicas de EGB.**

EGB es un patógeno oportunista que coloniza la cavidad oral y el tracto gastrointestinal sin causar manifestaciones clínicas en el portador de esta bacteria. Sin embargo, puede causar enfermedades dependiendo del estado inmunológico del portador y características genéticas de la bacteria. EGB es capaz de causar enfermedad en adultos mayores, recién nacidos y pacientes que tienen su sistema inmunológico comprometido como lo es en el caso de pacientes con cáncer, diabetes y VIH (Schuchat, 1998; Farley, 2001; Phares et al. 2008; Sendi et al. 2008; Skoff et al. 2009).

En mujeres embarazadas las manifestaciones de infección materna sintomática incluyen corioamnionitis, endometritis, cistitis, pielonefritis y bacteriemia febril (Dillion et al. 1987). El parto por cesárea parece ser un factor de riesgo prominente para la endometritis posparto (Minkoff, et al. 1982). El EGB también es una causa común de fiebre en pacientes posparto. La colonización con EGB se asoció significativamente con el parto prolongado, la ruptura prematura de membranas y el parto prematuro (Regan et al. 1981). Con menos frecuencia, el EGB se aísla en casos de infección de la herida postoperatoria, absceso pélvico, tromboflebitis pélvica séptica y osteomielitis.

Las infecciones neonatales se reconocen principalmente por tres estadíos en los que puede aparecer en diferentes periodos después del parto. (1) El primero es la enfermedad de inicio temprano (early-onset diseases, EOD), puede aparecer en los primeros 7 días del nacimiento y en muchos casos los neonatos pueden nacer con sepsis al momento del nacimiento, limitando las oportunidades para la prevención de la enfermedad. La EOD también puede causar infecciones sistémicas antes de las 24h del nacimiento, sepsis, neumonía fulminante y escasamente meningitis. (2) El segundo es la enfermedad de inicio tardío (late-onset diseases, LOD), se caracteriza por surgir entre 1 semana y los primeros 3 meses del nacimiento y puede deberse a la transmisión horizontal de EGB, sus manifestaciones clínicas son bacteremia, cerca de un cuarto de los casos son meningitis, y en raramente se desarrolla como celulitis e infecciones osteoarticulares (Melin, 2011). (3) El último y menos común es la enfermedad de inicio tardío-tardío (very late-onset diseases, VLOD), puede presentarse después de los primeros 3 meses del nacimiento hasta

los 16 años, puede causar infecciones y aunque su epidemiología es menos entendida, en algunos casos puede ser considerada como una secuela de LOD (Bartlett et al. 2016). En recién nacidos la presentación inicial de síntomas es dificultad para respirar en más del 80% de los casos. La neumonía y la septicemia son las manifestaciones más comunes, y del 5-10% también tendrán meningitis. La incidencia de la enfermedad de inicio temprano es aproximadamente 10 veces mayor en recién nacidos prematuros que a término (Shet y Ferrieri, 2004).

## **2.9 Colonización materna**

Durante el embarazo diferentes factores predisponen a las mujeres a presentar colonización por EGB, tanto socioeconómicos como biológicos. Los más importantes son el historial previo de ruptura de membranas, colonización gastrointestinal de EGB, edad mayor a 36 años, etnicidad, higiene, características nutricionales como la baja ingesta de vitamina D, actividad sexual, obesidad y analfabetismo (Patras y Nizet, 2018).

Debido a que el tracto gastrointestinal es un reservorio de EGB, la transmisión en mujeres embarazadas puede darse por proximidad del recto a la vagina. Las medidas de higiene tienen un papel fundamental en la infección por esta bacteria ya que una mala higiene puede facilitar el movimiento de EGB del recto a la vagina (Meyn et al. 2009). Mientras que en los neonatos generalmente la transmisión se puede dar de manera vertical u horizontal. De manera vertical el EGB se puede transmitir al momento del parto, mientras que la transmisión horizontal puede ser por parte del personal de enfermería del hospital (transmisión nosocomial), o por la ingestión leche materna contaminada (Rajagopal, 2009).

La colonización materna durante el embarazo es el principal factor de riesgo que predispone al desarrollo de la enfermedad invasiva de EGB. Durante el embarazo la colonización de EGB puede ser continua, intermitente o transitoria (Brzychczy-Wloch et al, 2014). Aunque la mayoría de las colonizaciones se describe como continua, es importante tener en cuenta que algunas de estas pueden presentar cambio del serotipo o del tipo de secuencia y diferentes características en la patogenicidad. (Taetero et al, 2017).

## 2.10 Transmisión Neonatal

Los neonatos pueden infectarse con EGB al momento del parto debido a una infección ascendente en la cual la bacteria se moviliza desde la vagina, hasta las paredes del cérvix, y después al útero, donde pueden penetrar las barreras de la placenta infectando al feto predisponiéndolo al nacimiento pretérmino o a la muerte (Perez-Ruiz et al. 2004).

Los neonatos generalmente adquieren el EGB por su exposición a éste en el canal del parto de una mujer colonizada. Sin embargo, EGB puede infectar al recién nacido por diferentes vías. (1) **Vía ascendente.** Esta vía ocurre cuando la mujer embarazada está colonizada a nivel cervicovaginal y el microorganismo se moviliza desde la vagina, hasta las paredes del cérvix, y después al útero, donde pueden penetrar las barreras de la placenta infectando al feto predisponiéndolo al nacimiento pretérmino o a la muerte. 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 18h y en partos antes de las 36 semanas de gestación. (2) **Durante el parto.** Cuando el EGB coloniza la vía aérea del producto a su paso por el canal del parto, el riesgo de infección se incrementa cuando ocurre asfixia al nacimiento debido al incremento en el tamaño del inóculo aspirado. (3) **Vía hematógeno-transplacentaria.** En estos casos el EGB llega al producto por la vía hematógena a través de la placenta. Cuando la mujer embarazada tiene un proceso infeccioso por EGB, como infección de vías urinarias, mastitis, corioamnionitis, etc., puede cursar con bacteriemia y por la vía sanguínea este microorganismo puede alcanzar y cruzar la barrera placentaria para infectar así al producto. (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 (Morinis et al. 2010, MacFarquhar et al. 2010). (6) **Leche materna como vector de transmisión.** Se han propuesto dos mecanismos de adquisición de EGB a través de la leche materna. El primero es que los neonatos al estar colonizados en la orofaringe al momento del nacimiento, pueden transmitir la bacteria a los conductos lácteos debido al flujo retrógrado de la leche asociado con la succión. Luego, el bebé se reinfecta a medida

que aumenta la concentración de bacterias en la leche materna. El segundo modelo sugiere que las bacterias ácido lácticas pueden transferirse del intestino de la madre a la leche materna y, a través de la leche, al tracto digestivo del bebé. Se ha propuesto que EGB puede seguir el mismo proceso que los lactobacilos (Le Doare y Kampmann, 2014).

### **2.11 Patogénesis de *S. agalactiae***

La infección por EGB puede presentarse en mujeres embarazadas, neonatos, y adultos mayores, las infecciones están caracterizadas por causar inflamación y penetrar en diferentes tejidos del hospedero. El proceso de infección se considera multifactorial en todos casos.

Durante la infección de EGB, el huésped desempeña un papel muy importante en el potencial patogénico. Sin embargo, los factores de virulencia también ayudan a su progresión dentro del huésped. La patogénesis de la enfermedad de inicio temprano (EOD), inicia con la colonización vaginal de la mujer embarazada, incluyendo la adherencia a las células epiteliales vaginales y la resistencia a las defensas inmunes. Posteriormente EGB ascender a la cavidad amniótica de la madre y después colonizar la piel o las membranas mucosas del feto, e ingresar a los pulmones por aspiración de líquido amniótico infectado (Palacios et al. 1999). Después del nacimiento, se replica dentro de los alvéolos, adherirse al epitelio respiratorio y evitar la eliminación de los macrófagos pulmonares, lo que causa una neumonía con lesiones pulmonares que es característica del EOD. La invasión a las células epiteliales y endoteliales pulmonares puede permitir que EGB ingrese al torrente sanguíneo causando septicemia. Esta diseminación del torrente sanguíneo puede conducir a meningitis y osteomielitis. La progresión de la enfermedad indica que EGB tiene que evadir las defensas inmunes del huésped para adherirse, invadir y transitar varias barreras celulares (Melin, 2011; Nizet et al. 2000). En el caso de la patogénesis de la enfermedad de inicio tardío (LOD), ocurre con la aparición gradual de síntomas, estos están relacionados con bacteriemia, daño pulmonar y una alta incidencia de meningitis con una progresión similar a la del EOD (Doran y Nizet, 2004).

Las mujeres embarazadas pueden presentar manifestaciones clínicas al momento del parto debido a la inflamación en diferentes tejidos. Las manifestaciones más comunes son corioamnionitis, endometritis, cistitis, pielonefritis, fiebre posparto y bacteriemia febril (Dillion et al. 1987), mientras que el parto por cesárea parece ser un factor de riesgo prominente para la endomiometritis posparto (Minkoff, et al. 1982). La colonización se asoció significativamente con el parto prolongado, la ruptura prematura de membranas y el parto prematuro (Regan et al. 1981). Con menos frecuencia, el EGB se aísla en casos de infección de la herida postoperatoria, absceso pélvico, tromboflebitis pélvica séptica y osteomielitis.

En el caso de los adultos mayores, EGB puede estar colonizando la cavidad oral, el tracto gastrointestinal o los sitios genitales. Está contenida en estos sitios hasta que logra avanzar y superar estas barreras físicas para desarrollar una infección, en caso contrario, el huésped puede desarrollar inmunidad adaptativa contra la bacteria. Al igual que en neonatos y mujeres embarazadas la infección puede involucrar factores del huésped y de la bacteria. Mientras que al superar las barreras físicas presentes en el hospedero se puede establecer en diferentes tejidos por lo que sus manifestaciones clínicas son diferentes. Hasta el momento, no se ha descrito la progresión de la enfermedad en adultos, pero las enfermedades que puede causar son: infecciones en tejidos blandos, neumonía, infecciones en el tracto urinario, bacteriemia sin foco, artritis, osteomielitis, meningitis y endocarditis (Edwards y Baker, 2005).

## **2.12 Diagnóstico**

Los lineamientos para la búsqueda y tratamiento de EGB planteados por la CDC en 2010, establecieron la búsqueda intencionada de EGB a las 35-37 semanas de gestación (sdg) utilizando métodos microbiológicos para su aislamiento, identificación y pruebas de resistencia a antibióticos (CDC 2010). En el caso de los métodos de serotipificación los métodos permitidos por la CDC incluyeron el test de precipitación de Lancefield, aglutinación en látex, real-time PCR, PCR convencional y secuenciación del genoma completo. En 2020 los lineamientos de detección y tratamiento fueron actualizados,

cambiando el intervalo recomendado para la búsqueda intencionada a 36-37 semanas de gestación debido a que el valor predictivo del muestreo aumenta cuando se toma dentro de las 5 semanas anteriores al parto. Para la recolección, transporte y almacenamiento de las muestras se recomienda el uso de un solo hisopo flocado, muestreando primero de la parte inferior de la vagina y luego del recto sin usar un espéculo, y colocar el hisopo en un medio de transporte a base de líquido, como el medio de transporte Amies, y deben transportarlas al laboratorio dentro de 24h posteriores al muestreo. Para la detección se recomienda el enriquecimiento en medios Caldo Todd Hewitt con gentamicina (8 µg / ml) y ácido nalidíxico (15 µg / ml) (Caldo Lim), Caldo Carrot o Caldo Bifásico Líquido Granada, antes de su siembra en placas de Agar de soya tripticasa con 5% de sangre de oveja, Agar Columbia con 5% de sangre de oveja, Agar Columbia con colistina y ácido nalidíxico o medios cromogénicos. Mientras que para la identificación se recomienda usar la prueba CAMP, aglutinación en latex, espectrometría de masas y amplificación de ácidos nucleicos. Aunque se considera que este último tiene baja especificidad comparada con métodos microbiológicos debido a la presencia de falsos-positivos. Aunque desde otro punto de vista algunos autores consideran que esos resultados podrían ser verdaderos positivos debido a que los métodos moleculares son más sensibles que los métodos microbiológicos. Sin embargo, también se pone a consideración que los falsos positivos pueden ser causados por reacciones cruzadas de los primers. La limitación más grande para el uso de métodos moleculares en la detección de EGB es que la bacteria no se aísla en este tipo de pruebas, y tener un cultivo puro es necesario para las pruebas de resistencia a antibióticos (Filkins et al. 2020).

La eficiencia de cada método es importante al elegir cual usar en un laboratorio clínico. La detección de EGB con medios cromogénicos tienen una sensibilidad alta, no requieren equipo especializado y se pueden obtener resultados en menos de 24h de incubación, sin embargo, su especificidad no es tan alta y requiere que sus resultados sean confirmados por otros métodos. En el caso de la PCR, la detección puede ser usando directamente una muestra clínica o incorporando un paso previo de enriquecimiento, por lo que el tiempo de obtención de resultados varía desde algunas horas hasta un día, tiene una sensibilidad alta sobre todo si se enriquece la muestra y tienen una alta especificidad por lo que no es necesario usar otros métodos para comprobar el resultado final. Al contrario que los

medios cromogénicos, la PCR necesita un equipo especializado que puede ser costoso y el costo de cada prueba es mayor comparándola con medios microbiológicos tradicionales (Rosa-Fraile y Spellerberg, 2017).

La detección de EGB varía dependiendo del método de muestreo y medio de cultivo utilizado. Al comparar su detección en muestras vaginales sin enriquecimiento usando el medio Columbia CNA, medio cromogénico Granada y Chrom ID Strep B, se obtiene una mayor detección usando los medios cromogénicos que el agar Columbia. Al usar un paso previo de enriquecimiento la detección sigue siendo mayor con medios cromogénicos, incluso usando el enriquecimiento con medios tradicionales no iguala a los medios cromogénicos sin enriquecimiento (El Aila et al. 2010). Dependiendo de las diferencias metodológicas de cada estudio se pueden obtener resultados equivalentes para los diferentes tipos de medios. El aumento del tiempo de incubación en agar CNA puede aumentar la detección de EGB hasta igualarla a los medios cromogénicos si se usa un enriquecimiento de 24h en THB con antibióticos y una incubación en Columbia CNA de hasta 48h. Sin embargo, la especificidad se ve afectada ya que en muchos casos las pruebas confirmatorias revelan un alto porcentaje de bacterias hemolíticas como *E. fecalis* y la velocidad en la obtención de resultados se reduce debido al tiempo extra de incubación del enriquecimiento y el agar (Tazi et al. 2008).

Durante la selección de medios cromogénicos también se debe tener en cuenta que cada medio difiere en su sensibilidad, especificidad y correlación con otros métodos. Al comparar el Strep B Carrot y Strep B CHROMagar en muestras vaginales y rectales obtuvo que la especificidad y sensibilidad del medio Strep B Carrot es de 100% y 89% respectivamente mientras que la del CHROMagar es de 73% y 100% respectivamente. Al evaluar la detección de EGB usando real-time PCR para el gen *dltS*, se obtuvo una detección 18% menor usando PCR directamente en una muestra que usando un enriquecimiento previo, la sensibilidad y especificidad del método fue de 81.4-82.9% y 100% respectivamente. Al comparar los resultados de los medios cromogénicos y la PCR se obtuvo una concordancia de 91.3% y un índice kappa de 0.76, mostrando que tienen los métodos un nivel moderado de concordancia. Aunque al comparar los resultados del CHROMagar y el PCR se obtiene una concordancia casi perfecta (índice

kappa de 1.00) tanto en muestras vaginales y rectales, sin resultados falsos positivos y falsos negativos (Furfaro et al. 2019).

La detección de EGB usando qPCR ha sido probada usando diferentes genes y kits comerciales que tienen una alta sensibilidad y especificidad comparándola con métodos cultivo microbiológicos. Los genes mas utilizados para estas pruebas son el gen sip, cfb que codifican para Surface Immunogenic Protein y el factor CAMP, mientras que las pruebas comerciales más utilizadas son LC, Taqman probe, IDI Strep B y HybProbe. Se ha reportado que los métodos de PCR tienen una sensibilidad desde el 45%, aunque la mayoría de los estudios reportan valores mayores al 90%. La especificidad varía dependiendo de la prueba en un rango de entre 85 y 100% (El Aila et al. 2011). Por otro lado, un estudio reportó un 100% de sensibilidad, especificidad y predictividad positiva y negativa. Estos resultados fueron obtenidos comparando el kit Smart GBS assay, cultivo en medio LIM y GBS PNA FISH. Un aspecto notable en este estudio es que la comparación no se dio de manera tradicional, comparando el método microbiológico contra la PCR, sino que este estudio basó sus valores definiendo que un resultado verdadero positivo es cuando se detecta EGB por dos métodos o más. Por lo tanto, para que un resultado se considerara un verdadero positivo se necesitaba la detección en mínimo dos métodos, así el Smart GBS assay obtuvo 64/206 muestras positivas (obteniendo 100% en todos sus valores), el GNS PNA FISH 63/206 y el subcultivo en caldo LIM 62/206. El método de comparación utilizado puede afectar los valores estadísticos obtenidos en cada estudio, estimando valores que pueden mejorar la percepción de sensibilidad y especificidad que en caso contrario, si tomáramos los medios microbiológicos recomendados por los lineamientos como el estándar dorado para comparar, se podrían obtener más falsos positivos de lo que en realidad se tienen (Wilson et al. 2010).

### **2.13 Tratamiento**

Desde la adopción de la quimioprofilaxis intraparto, la incidencia de enfermedad neonatal de inicio temprano causada por estreptococo del grupo B ha disminuido

significativamente (CDC, 1996). Actualmente la penicilina quimioproláctico de elección, mientras que los antibióticos alternativos, como la eritromicina y la clindamicina, se usan actualmente en mujeres que reportan alergia a la penicilina. EGB puede ser resistente a estos antibióticos. En 1997, el 15% de los aislados de EGB de mujeres embarazadas que fueron resistentes a la eritromicina y clindamicina, respectivamente (Pearlman, 2002). Dos años después, los aislados de EGB presentaban un 29% de resistencia a la eritromicina y 18% a clindamicina (Manning et al. 2009). Debido al incremento a la resistencia a antibióticos que puede presentar EGB es importante evaluar si los aislados presentan resistencia antes de administrar la profilaxis intraparto.

## **2.14 Biofilm**

Se ha sugerido que la producción de biopelículas es importante para la patogénesis del EGB junto con muchos otros elementos, incluidos el linaje filogenético y los factores de virulencia, como los tipos de pili y cápsulas. Los complejos clonales CC17 y CC19 se encuentran caracterizados como productores débiles de biofilm, sin embargo, estos tipos clonales presentan una alta capacidad para causar enfermedad invasiva en humanos. Mientras que los productores fuertes de biofilm se encuentran asociados a cepas aisladas de bovinos. La variabilidad de esta característica tiene impacto en la patogenicidad y en la persistencia de EGB. (Parker et al. 2016).

La producción de biofilm también se ve afectada por el ambiente al que este expuesta las bacterias como pH y cantidad de nutrientes disponibles en el medio. Se ha observado que EGB es capaz de producir mayor cantidad de biofilm en condiciones de pH de 6.5 (Yang et al. 2012). En contraste, otros estudios indican que la producción de biofilm es mayor en condiciones de pH ácido y en medios de cultivo con baja cantidad de nutrientes (medio M8YE) comparándolo contra el medio Todd-Hewitt a pH ácido (Konto-Ghiorghi et al. 2009).

La producción de biofilm está relacionado con los genes que codifican la maquinaria del pilus de EGB se agrupan en tres islas genómicas relacionadas (islas PI-1, -2a y -2b)

ubicadas en dos loci separados flanqueados por repeticiones directas y genes conservados. Las proteínas pilus de PI-1 y PI-2b difieren en muy pocos aminoácidos, mientras que PI-2a es más variable con siete alelos descritos tanto para BP como para AP1 que presentan identidades de secuencia entre 48 y 98%. Los estudios que utilizaron mutantes isogénicos de EGB que carecen de componentes del pilus 2a o las enzimas sortasa responsables de la polimerización del pilus y la unión a la pared celular, indicaron un papel de los pili en el contacto con la célula huésped y en la formación de estructuras tridimensionales de colonias múltiples en la superficie abiótica (Rosini y Margrit 2015).

Para la relación de resistencia a antibióticos y la capacidad de producción de biofilm, no se ha encontrado una relación entre la resistencia a eritromicina y clindamicina y una alta producción de biofilm (Alipour-Shabad et al. 2020)

## **2.15 Resistencia a Antibióticos**

Dependiendo de los lineamientos, a las madres se les administra profilaxis antibiótica intraparto basada en factores de riesgo o protocolos de detección y, por lo tanto, es importante monitorear las tasas de resistencia a los antibióticos. La penicilina es el antibiótico de primera elección para la PAI y en casos de alergias graves a la penicilina, los macrólidos como la eritromicina y las lincosamidas como la clindamicina se recomiendan como antibióticos de segunda línea en algunos países. Sin embargo, el aumento de la resistencia a ambos antibióticos ha limitado su uso. El Royal College of Obstetricians and Gynecologists (RCOG) ya no recomienda el uso de clindamicina en Reino Unido. Si bien la penicilina sigue siendo eficaz contra el EGB, los informes cada vez mayores de aislados con susceptibilidad reducida son preocupantes y un motivo de preocupación, especialmente cuando la resistencia a los antibióticos de segunda línea como la eritromicina y la clindamicina sigue siendo alta entre los EGB. La resistencia a antibióticos de cada cepa de EGB puede ser evaluada usando diferentes métodos, sin embargo, los mecanismos de cada bacteria pueden variar por lo que su evaluación usando métodos moleculares como PCR no pueden ser usados para su determinación debido a la alta variabilidad que puede haber en ellos (Hayes et al. 2020).

## **2.16 Clonalidad.**

Para aspectos epidemiológicos, el serotipificado de EGB ha sido ampliamente utilizado para identificar y rastrear variantes de EGB. En años más recientes esto se ha complementado con métodos genéticos, como la tipificación de secuencias multilocus (MLST), electroforesis en campos pulsados (PFGE), la determinación del patrón de digestión por endonucleasa de restricción, y la electroforesis multilocus. (Tattelin et al. 2005).

Las diferentes clonas de EGB se pueden considerar como subtipos de los diferentes serotipos y pueden expresar diferentes proteínas antigénicas membranales. Algunas de estas son proteínas miembros de la familia de tipo alfa (Alp), Ca, Alp1, Alp2, Alp3 y Rib. La expresión de estas proteínas tiene como consecuencia diferente inmunogenicidad por lo que las subclonas o subtipos de EGB pueden tener diferente respuesta inmune (Mavenyengwa et al. 2008). En el caso particular de algunos subtipos, se ha encontrado que la expresión de proteínas se encuentra asociada a la formación de biofilm y a una mayor capacidad invasiva que se a encontrado en la prevalencia de neonatos (D'Urzo et al. 2013).

Gracias a los métodos de subtipificación como MLST y PFGE se ha logrado describir clonas hipervirulentas de EGB las cuales tienen mayor capacidad de causar enfermedades invasivas en mujeres embarazadas, neonatos y pacientes sin embarazo. En algunos, los subtipos de clonas hipervirulentas tienen como característica el cambio del serotipo, tal es el caso de la clona CC17 que puede presentar cambio del serotipo III al IV. Análisis en la secuencia de este subtipo indican esto se debe a un cambio en la secuencia del operón cps de EGB. El cambio del serotipo puede ser de importancia en el desarrollo de vacunas debido a la diferente respuesta inmune que pueden producir los dos serotipos (Ballais et al. 2012).

### **III. JUSTIFICACIÓN**

El *Streptococcus* del Grupo B se reconoce como una de las principales causas de abortos y partos pretérmino, así como una causa importante de morbilidad y mortalidad en neonatos. En México no se realiza la búsqueda intencionada de este patógeno ni la profilaxis antibiótica intraparto por lo que generar datos epidemiológicos que permitan justificar su búsqueda y uso son importantes. La mayoría de los estudios realizados en México se han realizado en el sur del país. Mientras que en el noreste no se cuenta con la información suficiente para justificar su búsqueda y posteriormente el uso de profilaxis en las mujeres con resultados positivos. Por lo tanto, la caracterización de los aislados de EGB como es la caracterización de la producción de Biofilm, su resistencia a los antibióticos y la determinación de la variabilidad genética de los aislados es importante para poder tomar medidas complementarias y acciones que aseguren la efectividad de la profilaxis contra esta bacteria.

#### **IV. HIPÓTESIS**

Los diferentes aislados de EGB producen un diferente nivel de biofilm y tienen una diferente resistencia a antibióticos dependiendo de su serotipo y tipo clonal.

## **V. OBJETIVOS**

### **5. Objetivo General.**

1. Realizar la caracterización molecular de aislados de EGB de mujeres embarazadas y relacionar estas características con la respuesta inmune innata.

### **5.1 Objetivos específicos.**

1. Aislar e identificar el EGB en muestras de las pacientes embarazadas.
2. Identificar los serotipos del EGB en las muestras positivas.
3. Evaluar la distribución y la existencia de clonas de EGB
4. Evaluar la producción de biofilm de cada cepa de EGB aislada
5. Evaluar la resistencia a antibióticos de cada aislado de EGB
6. Correlacionar los resultados de la evaluación de la producción de biofilm, resistencia a antibióticos y clonas con serotipos específicos de EGB.

## **VI. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **6.1 Diseño del estudio**

Se realizó un estudio transversal analítico para evaluar los factores sociodemográficos, heredofamiliares, ginecobstétricos y genéticos de las mujeres embarazadas colonizadas por el Estreptococo del grupo B. Se abordaron mujeres embarazadas de entre 35 y 37 semanas de gestación durante el período de enero a junio del 2020, las cuales llenaron un cuestionario para obtener información clínica y epidemiológica relevante. Finalmente se firmó una carta de consentimiento informado (Anexo 2). Los aspectos clínicos fueron evaluados por el responsable médico, así como el manejo de la información de los consentimientos de las participantes.

#### **Criterios.**

Criterios de inclusión.

- a. Mujeres entre las semanas 35 y 37 de gestación
- b. Todos los recién nacidos o productos de madres colonizadas por Estreptococo del grupo B.

Criterios de no inclusión.

- a. Mujeres embarazadas que no deseen dar su consentimiento informado.

Criterios de eliminación.

- a. Si la mujer embarazada, sea ella y/o su recién nacido, se retirarán del estudio o se pierde en el seguimiento por cualquier causa no relacionada con EGB, antes de que se complete el seguimiento planeado, siempre y cuando no haya ocurrido el parto.

## **6.2 Muestreo vagino-rectal de mujeres embarazadas.**

La toma de muestra fue hecha en dos partes; la primera en dos hisopados en el introito vaginal y el área perianal (no invasiva); las muestras fueron tomadas antes de cualquier manipulación de la vagina, sin higiene femenina previa, y sin el uso de antibióticos previos. La segunda fue una muestra de sangre, en tubo sin anticoagulante para obtener el suero de las pacientes y otra muestra en tubo con anticoagulante (EDTA) para poder realizar el grupo sanguíneo de las pacientes. A los productos provenientes de madres colonizadas, se les tomó una muestra de faringe, del área periumbilical y rectal, esto dentro de las primeras 4 h del nacimiento para determinar la presencia del EGB. Se les dió seguimiento durante tres meses, a madre e hijo colonizados.

Los hisopos con las muestras se colocaron en caldo Todd-Hewitt (THB) adicionado con 8 mg/l de Gentamicina y 15 mg/l de ácido nalidíxico (THB, Becton-Dickinson, NJ, EUA). Mientras que el segundo hisopo fue colocado en Stuart. Estas muestras fueron transportadas en menos de 24 h de ser recolectada la muestra al Laboratorio de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. (Si este tiempo fuera excedido, la muestra y la paciente fueron eliminadas del estudio).

## **6.3 Aislamiento e identificación del EGB.**

Las muestras sembradas en caldo Todd-Hewitt, se incubaron 37°C por 18-24 h, en un ambiente de CO<sub>2</sub> al 5%, para posteriormente ser sembradas en agar base sangre (OXOID LTD, Basingstoke, Hampshire, England), con eritrocitos de carnero al 5%. Mientras que las muestras obtenidas en COPAN fueron sembradas en CHROMagar™ StrepB (CHROMagar, USA) ambas muestras se incubaron a 37°C por 18-24 h, en un ambiente de CO<sub>2</sub> al 5%. De las placas de agar sangre, se buscaron las colonias que presentaran β-hemolisis y de las placas de CHROMagar™ StrepB colonias con un color malva intenso,

las colonias obtenidas se sembraron en una placa de agar sangre para ser aisladas. Una vez aisladas, se realizó una tinción de Gram para observar cocos Gram positivos.

Posteriormente se realizó una prueba de catalasa, el EGB no contiene la enzima catalasa por lo que, al ponerla en contacto con el peróxido de hidrógeno, este no se descompone en oxígeno y agua, esto se puede observar con la ausencia de efervescencia.

Siguiente a estas dos pruebas, realizó la prueba de hidrólisis del hipurato, usando tubos con 400 ul de agua deshilada estéril en donde se inocularon 3-4 colonias de la bacteria y se agregó un disco que contiene hipurato, se incubaron 2 h a 37°C, pasado este tiempo se agregó 3-4 gotas de ninhidrina y se incubo otros 15 min. El EGB tiene la capacidad de hidrolizar el hipurato mediante la enzima hipuricasa, que da como resultado la presencia de la glicina, que en presencia de ninhidrina reaccionan estos compuestos dando como resultado un cambio de coloración (lila-morado) después del tiempo de incubación.

La última prueba para identificar a EGB fue la prueba de CAMP (Christie- Atkins-Munch-Peterson test), presente en la mayoría de los EGB a la que se conoce como factor CAMP, esta prueba detecta una proteína extracelular difusible y termoestable que aumenta y mejora la beta hemólisis de *Staphylococcus aureus*. Para esta prueba se sembró una línea recta *Staphylococcus aureus* en el centro de una placa de agar y de forma perpendicular sin tocar al *S. aureus* serán sembradas las muestras problema, el control positivo (*Streptococcus agalactiae*) y el negativo (*E. faecalis*). La placa fue incubada a 37°C durante 18-24 h. Cuando la prueba es positiva para el factor CAMP aparece una hemólisis característica de punta en flecha entre la unión de crecimiento del *S. aureus* y las muestras que sean EGB.

Una vez hecha la identificación mediante las pruebas bioquímicas, se verificó cualitativamente su crecimiento en el medio StrepB Carrot Broth™ Kit. Para esto, se utilizó la característica única de los EGB hemolíticos de producir un pigmento que va de un naranja claro a un naranja rojizo. El StrepB Carrot Broth™ Kit contiene los

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

#### **6.4 Serotipificación.**

Para la identificación de los serotipos de los aislados de EGB se usó la prueba de aglutinación de látex (Pastorex B Streptococci, Sanofi Diagnostic Pasteur, Marnes La Coquette, Francia). Este kit permite la identificación de todos los serotipos de EGB actualmente identificados (Ia, Ib, II-IX). Se tomo una colonia de cada una de las muestras posibles de EGB y se puso en contacto con el reactivo que contiene las partículas de látex sensibilizadas con los anticuerpos específicos para cada uno de los serotipos.

#### **6.5 Electroforesis de campos pulsados**

Para la electroforesis de campos pulsados se realizó el cultivo de los aislados de *Streptococcus agalactiae* en medio Todd-Hewitt hasta la fase logarítmica para obtener el pellet de bacterias, el cual fue lavado con buffer PIV. El pellet se resuspendió para obtener una OD de 0.6 a 550 nm y se mezcló con una solución de agarosa para tener una concentración final de agarosa al 1%. Después se elaboraron los discos con 20  $\mu$ l de la mezcla de agarosa y bacterias que fueron sometidos a un proceso de lisis con 10 mg/ml de lisozima durante 4 h a 37°C y posteriormente con proteinasa K durante 20 h a 50°C. Posterior se hizo el lavado de los discos con buffer TE, durante 5h, cada hora se cambiará el buffer. Al terminar los lavados se realizó la restricción del DNA con 100 UI de la enzima SmaI a 25°C durante 17 h. Al terminar la restricción del DNA se corrió el gel en las siguientes condiciones: 21 h a 14°C, a 6.0 V/cm, utilizando un intervalo de tiempo entre pulsos inicial de 3' y un pulso final de 55'. Al terminar el gel se tiñó con bromuro de etidio (10 mg/ml) durante 30 min en agitación constante. El gel teñido se llevó al foto documentador para observar y registrar los resultados.

## **6.6 Resistencia a antibióticos.**

Para evaluar la resistencia a antibióticos en el Vitek 2, se suspendieron cultivos nocturnos en placas de agar sangre de oveja al 5% en una solución salina al 0.45% para obtener un equivalente de McFarland de 0.5-0.63 y se cargaron en tarjetas Vitek®2 GP para su identificación. Para evaluar la resistencia a antibióticos de EGB, la suspensión anterior se diluyó a  $1,5 \times 10^7$  UFC/ml y se cargó en la tarjeta AST-GP75, que contenía ampicilina, levofloxacina, moxifloxacino, linezolid, vancomicina, tetraciclina y tigeciclina. Las tarjetas se llenaron, sellaron y cargaron automáticamente en el instrumento VITEK 2 para su incubación y lectura.

En el caso de la evaluación de resistencia para la eritromicina y clindamicina, se utilizó la metodología de difusión de disco. A partir del cepario, EGB se cultivó en agar Muller Hilton (con 5% de sangre de oveja) (MHB) se suspendieron en solución salina al 0.9% para obtener un equivalente de McFarland 0.5. La suspensión se usó para inocular una placa de MHB sumergiendo un hisopo en el tubo, girándolo contra la superficie de la placa y dejándolo reposar a temperatura ambiente durante 5 min. Los discos de eritromicina y clindamicina se separaron sobre la superficie del agar y se incubaron a 37°C durante 16-18 h. Los resultados se midieron utilizando el diámetro de la zona de inhibición y se interpretaron de acuerdo con la directriz del Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).

## **6.7 Determinación de la capacidad de formación de biofilm.**

El ensayo se llevó a cabo mediante la técnica de microtitulación en placa. Se comenzó sembrando las muestras de EGB en placas Petri desechables con Agar Sangre y se dejaron en incubación 24 h a 37°C. Posteriormente, se preparó el inóculo tomando 10 colonias de EGB de las placas de Agar Sangre y se sembraron en tubos con 400 µl de Todd-Hewitt a 2% de glucosa, se agitó brevemente en un vortex y se agregaron alícuotas de 200 µl a cada pocillo de la placa de microtitulación, todas las muestras se realizaron por triplicado, y se dejaron incubado por 18 h a 37°C. El sobrenadante de cada pocillo se eliminó, se dieron

tres lavados a la placa con agua bidestilada para eliminar el exceso de bacterias no adheridas. Posteriormente, se agregó 200 µl en cada pocillo de Cristal Violeta al 0.5% durante 10 min. Después se decantó el Cristal Violeta y se dieron tres lavados con agua bidestilada.

Se agregaron 200 µl de ácido acético glacial al 30% para liberar el colorante unido a las células teñidas, la formación de biofilm se cuantificó midiendo la absorbancia a 590 nm de la solución con un lector de microplacas (D'Urzo N. et al., 2014). Los resultados se interpretaron y se clasificaron como no productores, productor débil, productor moderado y productor fuerte de biofilm según el corte de densidad óptica (DOc) que es dado por la ecuación de promedio del control negativo + 3 × desviación estándar del control negativo (Salinas C, et al., 2017). La formación de biopelículas por cepas se analizó y categorizó en función de la absorbancia de las células adheridas teñidas con Cristal Violeta. La clasificación de las capacidades de formación de biopelículas mediante el método de placa de microtitulación es dada por los siguientes criterios: No productores ( $DO \leq DOc$ ), Productores débiles ( $DOc < DO \leq 2xDOc$ ), Productores moderados ( $2xDOc < DO \leq 4xDOc$ ) y Productores fuertes ( $4xDOc < DO$ )

## 6.8 Análisis estadísticos

Para el análisis de los resultados se utilizaron métodos de estadística descriptiva, que en el caso de variables cuantitativas se utilizaron medianas con valores mínimos y máximos y en el caso de variables cualitativas frecuencias absolutas y porcentajes. Para el análisis inferencial de variables cualitativas la prueba de  $X^2$  o de la probabilidad exacta de Fisher y para variables cuantitativas la prueba de U de Mann-Whitney. Se consideró significativo un valor de  $p < 0.05$ . Se midió además la RM con su intervalo de confianza al 95%. Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 22.0.

La formación de biofilm entre los aislados de *S. agalactiae* se evaluó mediante la prueba Shapiro-Will para determinar la normalidad de las muestras, se usó la prueba no-paramétrica Kruskal-Wallis para evaluar si hay diferencia entre todos los serotipos y se realizó la comparaciones múltiples de Tukey para determinar entre cuales grupos había

diferencia significativa. Todos los análisis estadísticos fueron realizados en el programa GRAPHpad prism 9. Se consideraron los valores de p inferiores a 0.05 como significativos.

Para el análisis de las bandas obtenidas de cada aislado se usó el programa Bionumerics 8.0. En el se realizó la importación de la imagen del gel en formato TIFF al programa, su normalización con respecto al marcador de peso molecular y la obtención de las curvas dadas por la concentración y el peso del DNA de cada banda, con los cuales se pudo construir un dendograma para relacionar las cepas aisladas.

## VII. RESULTADOS

Durante el muestreo se analizaron 1924 muestras de mujeres embarazadas de entre 35 y 37 semanas de gestación, de las cuales resultaron 1872 negativas y 52 positivas a EGB, representado una prevalencia de 2.68% en la población muestreada. De las 52 muestras positivas de las madres colonizadas, se obtuvieron 2 muestras positivas de neonatos (Figura 3).

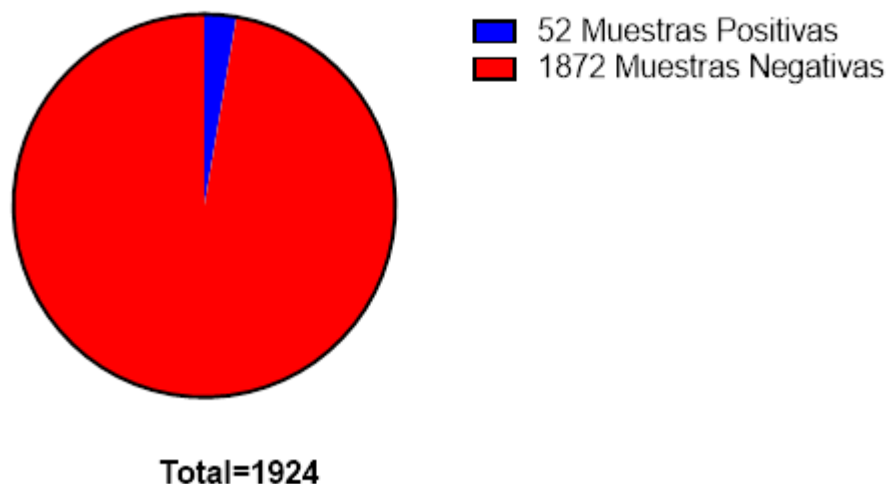


Figura 3. Prevalencia de muestras positivas de EGB en mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación. Total de muestras obtenidas: 1924, Total de muestras positivas: 52

Para evaluar los factores de riesgo de las mujeres embarazadas se analizó la información epidemiológica relevante mediante la razón de momios y el valor de p. Los resultados de ambos análisis indican que no hay una correlación entre el estado de colonización de la madre y los factores de riesgo evaluados (Tabla 2).

Tabla 2. Características sociodemográficas y gineco-obstétricas de 1924 mujeres embarazadas de acuerdo con el estado de colonización por Estreptococo del grupo B (EGB).

Características		Total (n=1924)	Si (n=52)	No (n=1872)	RM (95% CI)	p
<b>Edad</b>		27 (16-42)	29 (17-38)	27 (16-42)	-	-
<b>Grupo de Edad (Años)</b>	≤30	1397 (72.6%)	35 (67.3%)	1372 (72.8%)	0.815 (0.441-1.505)	0.305
	>30	494 (13%)	15 (28.8%)	479 (25.6%)		
<b>Nivel Socioeconómico</b>	<b>Medio-Medio/ Bajo o Bajo</b>	1590 (82.6%)	45(86.5%)	1545 (82.5%)	1.379 (0.583-3.262)	0.307
	<b>Otra</b>	290 (15.1%)	6 (11.5%)	284 (15.2%)		
<b>Número de embarazos</b>	<b>1</b>	566 (29.4%)	17 (32.7%)	549 (29.3%)	1.123 (0.624-2.021)	0.401
	<b>2 o mas</b>	1331(62.9%)	35 (67.3%)	1296 (69.2%)		
<b>Infecciones en tracto urinario</b>	<b>Previo</b>	478 (24.8%)	10 (19.2%)	468 (25%)	0.636 (0.304-1.331)	0.15
	<b>Actual</b>	800 (41.6%)	26 (50%)	774 (41.3%)		
<b>Comorbilidades</b>	<b>Obesidad</b>	62 (3.2%)	2 (3.8%)	60 (3.2%)	2.306 (0.534-9.969)	0.235
	<b>Diabetes mellitus tipo 2</b>	25 (1.3%)	0 (0%)	25 (1.3%)	-	0.525
	<b>Diabetes Gestacional</b>	340 (17.7%)	14 (26.9%)	326(17.4%)	1.895 (1.003-3.581)	0.041

A partir de los aislados de *S. agalactiae* se realizó la serotipificación de cada muestra. El más común fue el serotipo II con 10 muestras positivas, lo que representa el 19,2% de las muestras positivas recogidas de gestantes, seguido de los serotipos III y IV con nueve muestras positivas cada uno. Cada uno representa el 17,4% de las muestras positivas. En consecuencia, el 46,2% restante estuvo formado por los serotipos Ia, Ib V, VIII y cepas no tipificables (NT) (Figura 4). También encontramos el primer serotipo VIII en México, que se encuentra comúnmente en Japón, pero ocasionalmente se detecta en los Estados Unidos y países europeos como Dinamarca y Francia.

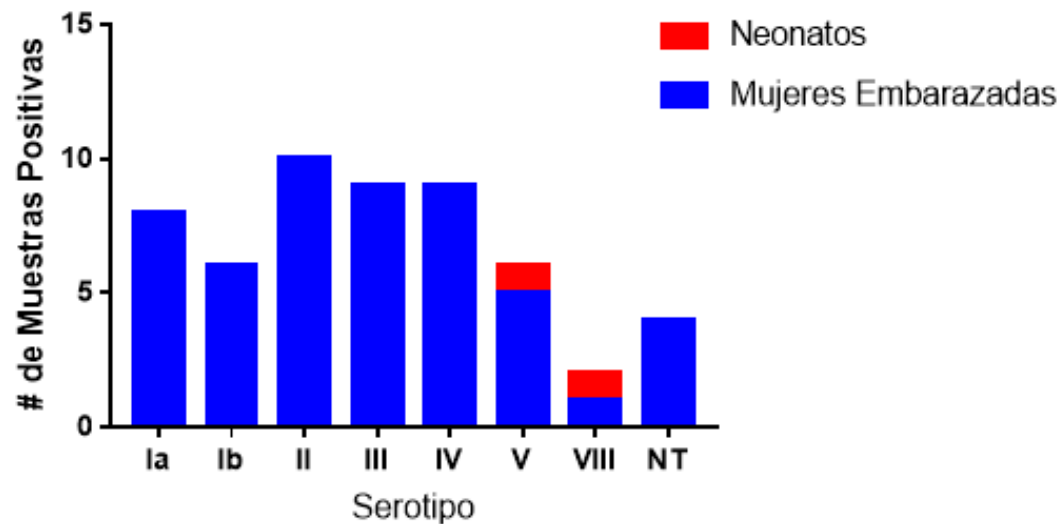


Figura 4. Prevalencia de los serotipos obtenidos de EGB en mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación representado en número de muestras

Posterior a la identificación de cada serotipo se evaluó la producción de biofilm de cada cepa (n=54), mediante un ensayo de microtitulación de Cristal Violeta midiendo la absorbancia en un lector de placas a 595 nm (Figura 5) y se correlacionó la producción de biofilm considerando un valor de corte ( $DOc = 0.288279221$ ). Este valor fue determinado mediante el valor de la media del blanco más tres veces su desviación estándar, y se clasificó mediante los siguientes criterios: No productores ( $DO \leq DOc$ ). Productores débiles ( $DOc < DO \leq 2xDOc$ ), Productores moderados ( $2xDOc < DO \leq 4xDOc$ ) y Productores fuertes ( $4xDOc < DO$ ) (Salinas C, et al., 2017). Las cepas del serotipo Ib fueron los mayores productores de biofilm obteniendo una absorbancia promedio a 595 nm de 0.8, seguido de las cepas del serotipo Ia y NT con absorbancias de 0.55 y 0.51 respectivamente. El resto de las cepas produjeron una cantidad menor de biofilm obteniendo valores de menos de 0.4.

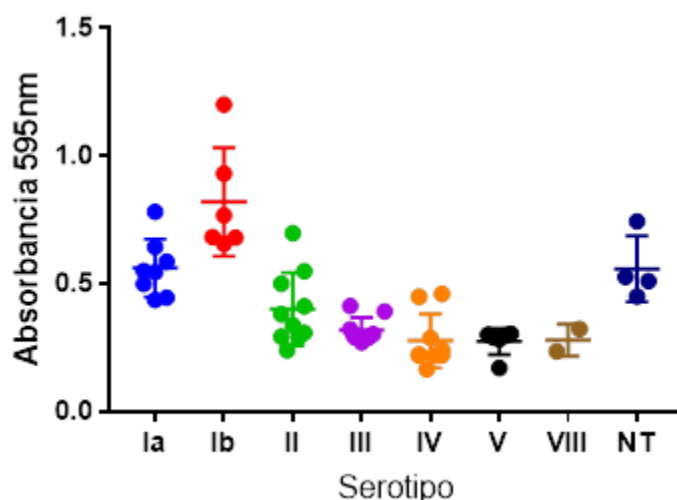


Figura 5. Absorbancias obtenidas a partir del ensayo de CV en cada cepa de los distintos serotipos de EGB a una absorbancia de 595nm.

Una vez clasificadas las cepas usando el tipo de producción se encontró que 34 presentaban una producción débil, 10 producción moderada, 9 eran no productores y 1 producción fuerte. La única cepa que presentaba una producción fuerte era del serotipo Ib, mientras que las 5 cepas restantes producían un biofilm moderado. El serotipo Ia es el que sigue con más cepas productoras de biofilm moderado, teniendo 3, mientras que los 5 restantes a este serotipo

tienen una producción de biofilm débil. El resto de las cepas eran productores débiles o no productores, con la excepción de 2 cepas que se clasifican como productores moderados, una perteneciente al serotipo II y otra al NT (Figura 6).

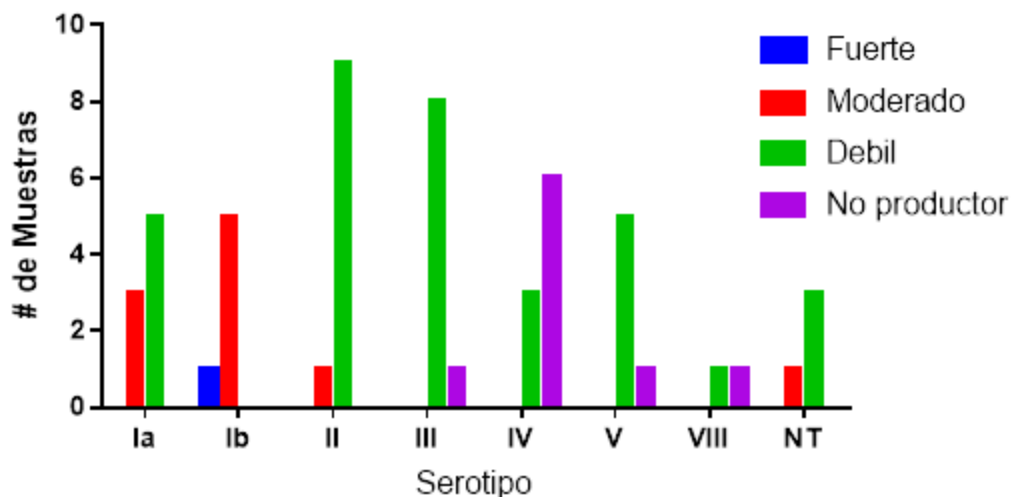


Figura 6. Clasificación de tipo de productores de biofilm mediante el ensayo de CV en cada cepa de los distintos serotipos de EGB a una absorbancia de 595nm.

Para finalizar, se comparó la producción de biofilm entre cada serotipo y se determinó si existe diferencia significativa entre ellos usando el programa GraphPad Prism 9. Se determinó que los datos no son normales usando la prueba de Shapiro-Will, y se utilizó la prueba no-paramétrica Kruskal-Wallis obteniendo como resultado que las muestras comparadas son diferentes entre los diferentes grupos (valor de  $p$ ,  $<0.0001$ ). Por último se realizó la prueba de Tukey para determinar las diferencias estadísticas entre cada serotipo. El serotipo Ib que tiene la mayor producción de biofilm muestra una diferencia significativa en comparación con todos los demás serotipos (Tabla 3).

Tabla 3. Comparación múltiple de Tukey utilizando la absorbancia del ensayo de CV comparando los promedios de cada serotipo.

<b>Comparación múltiple de Tukey</b>	<b>Diferencia Significativa</b>	<b>Intervalo de Confianza (0.95)</b>	<b>Significancia</b>	<b>Valor ajustado de <i>P</i></b>
<b>Ia vs. Ib</b>	-0.259	-0.4667 a -0.05135	Si	0.0058
<b>Ia vs. III</b>	0.2428	0.05596 a 0.4297	Si	0.0036
<b>Ia vs. IV</b>	0.285	0.09818 a 0.4719	Si	0.0004
<b>Ia vs. V</b>	0.2872	0.0795 a 0.4949	Si	0.0016
<b>Ib vs. II</b>	0.4193	0.2208 a 0.6179	Si	< 0.0001
<b>Ib vs. III</b>	0.5018	0.2992 a 0.7045	Si	< 0.0001
<b>Ib vs. IV</b>	0.5441	0.3414 a 0.7467	Si	< 0.0001
<b>Ib vs. V</b>	0.5462	0.3242 a 0.7682	Si	< 0.0001
<b>Ib vs. VIII</b>	0.5411	0.2271 a 0.8551	Si	< 0.0001
<b>Ib vs. NT</b>	0.2623	0.01402 a 0.5105	Si	0.0316
<b>III vs. NT</b>	-0.2396	-0.4707 a -0.008507	Si	0.0372
<b>IV vs. NT</b>	-0.2818	-0.5129 a -0.05073	Si	0.0075
<b>V vs. NT</b>	-0.284	-0.5322 a -0.03574	Si	0.0149

En las pruebas de resistencia a los antibióticos, la mayoría de los EGB eran resistentes a la tetraciclina, pero se pueden distinguir los siguientes resultados significativos: (1) una de las 9 cepas del serotipo IV tenía resistencia a la tetraciclina, (2) uno de los 4 aislados NT tenía resistencia a la tetraciclina, (3) las cepas de los serotipos Ib, II, III, V y VIII presentaron resistencia a la tetraciclina, y (4) una de 9 cepa del serotipo III presentó resistencia a levofloxacina, moxifloxacina y tetraciclina, y tuvo menor susceptibilidad a ampicilina (Tabla 4).

Tabla 4. Nivel de resistencia a los antibióticos de aislado de EGB. S: sensible, I: intermedio, R: resistente, RS: susceptibilidad reducida, AMP: ampicilina, LEV: levofloxacin, MOX: moxifloxacin, LIN: linezolid, VAN: vancomicina, TET: tetraciclina, TIG, tigeciclina, ERY: eritromicina y CLY : clindamicina.

Muestra	Serotipo	AMP		LEV		MOX		LIN		VAN		TET		TIG		ERY (Disk 15µg) *			CLY (Disk 2µg) *		
		≤	≥	≤	≥	≤	≥	≤	≥	≤	≥	≤	≥	≤	≥	≥	I	≤	≥	I	≤
Rango CMI µg/ml		0.25	16	0.12	8	0.25	8	0.5	8	0.5	32	1	16	0.1	2	21	16-20	15	19	16-18	15
423	Ia	S		S		S		S		S		R		S		S				S	
1327	Ia	S		S		S		S		S		S		S		S				S	
1582	Ia	S		S		S		S		S		R		S		I				S	
1781	Ia	S		S		S		S		S		S		S		S				S	
1841	Ia	RS		S		S		S		S		S		S		S				S	
1884	Ia	S		S		S		S		S		R		S		S				S	
1888	Ia	RS		S		S		S		S		R		S		S				S	
1890	Ia	S		S		S		S		S		R		S		S				S	
18	Ib	S		S		S		S		S		S		S		S				S	
1038	Ib	S		S		S		S		S		S		S		S				I	
1207	Ib	S		S		S		S		S		R		S		I				I	
1503	Ib	S		S		S		S		S		R		S		S				I	

1600	Ib	S	S	S	S	S	R	S	S	I
1720	Ib	S	S	S	S	S	R	S	I	I
480	II	S	S	S	S	S	R	S	S	S
610	II	S	S	S	S	S	R	S	S	S
685	II	S	S	S	S	S	R	S	S	I
833	II	S	S	S	S	S	R	S	S	I
840	II	S	S	S	S	S	R	S	S	I
1184	II	S	S	S	S	S	R	S	S	I
1186	II	S	S	S	S	S	R	S	S	S
1514	II	S	S	S	S	S	R	S	S	I
1571	II	S	S	S	S	S	R	S	I	S
1757	II	S	S	S	S	S	R	S	I	I
204	III	RS	S	S	S	S	R	S	S	S
210	III	S	S	S	S	S	R	S	S	S
725	III	S	S	S	S	S	R	S	S	S
1673	III	S	S	S	S	S	R	S	S	S
1718	III	S	S	S	S	S	R	S	I	I

1754	III	S	S	S	S	S	R	S	I	I
1756	III	RS	S	S	S	S	R	S	I	I
1872	III	S	S	S	S	S	R	S	S	S
1875	III	RS	R	R	S	S	R	S	R	R
73	IV	S	S	S	S	S	S	S	S	I
688	IV	S	S	S	S	S	S	S	S	I
755	IV	S	S	S	S	S	S	S	S	S
865	IV	S	S	S	S	S	S	S	I	S
1205	IV	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1249	IV	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1367	IV	S	S	S	S	S	R	S	S	S
1495	IV	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1783	IV	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1486	NT	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1500	NT	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1546	NT	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1574	NT	S	S	S	S	S	R	S	S	S

104	V	S	S	S	S	S	R	S	S	I
414	V	S	S	S	S	S	R	S	S	S
1356	V	RS	S	S	S	S	R	S	S	S
1430	V	S	S	S	S	S	R	S	S	S
1808bebe	V	S	S	S	S	S	R	S	S	S
1808madre	V	S	S	S	S	S	R	S	S	S
1239bebe	VIII	RS	S	S	S	S	R	S	S	S
1239madre	VIII	S	S	S	S	S	R	S	S	S

Para evaluar la distribución clonal de los aislados de EGB se realizó el análisis de PFGE. La mayoría de las cepas pertenecieron a diferentes linajes. Sin embargo, los resultados indican que las cepas provenientes de la madre y transmitidas a los neonatos son la misma cepa, indicando que no fueron casos de transmisión nosocomial. Particularmente la cepa 1574 NT también presenta el mismo patrón de bandas que las cepas del serotipo VIII, indicando que se puede tratar del mismo serotipo, sin embargo, la cepa no tipificable no fue identificada mediante serotipificación debido a una ausencia de aglutinación contra el suero a este serotipo (Figura 7).

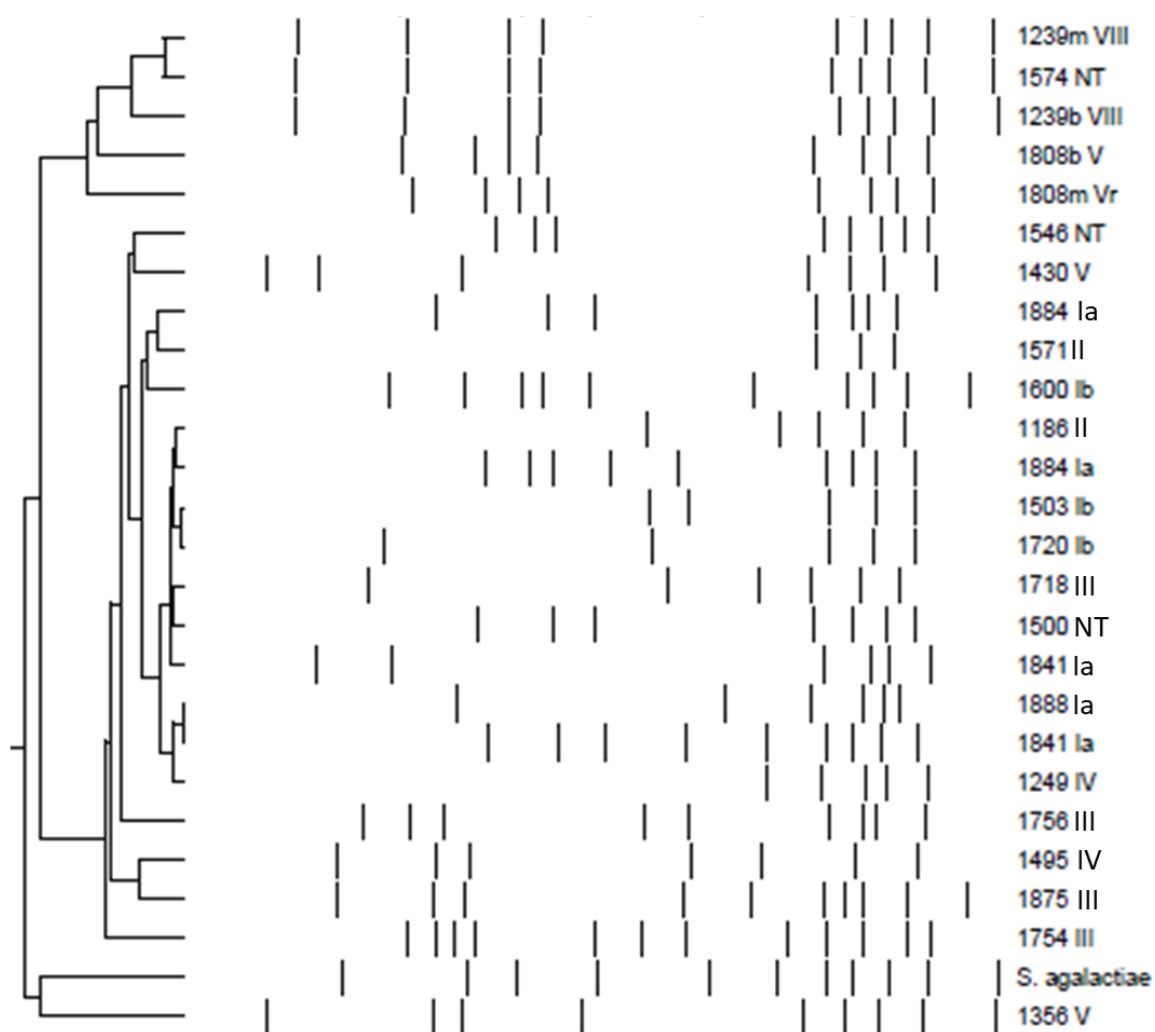


Figura 7. Dendrograma de los patrones de bandas obtenidos mediante PFGE.

## VIII. DISCUSIÓN

La prevalencia de EGB en mujeres embarazadas y recién nacidos varía en todo el mundo. Los estudios informan rangos amplios de prevalencia de la colonización en México según la ubicación, el momento y el diseño del estudio. Nuestro estudio obtuvo una prevalencia del 2,70% en mujeres embarazadas con 35-37 semanas de gestación en muestras vaginales-rectales. En México, se desarrollaron ocho informes de prevalencia de EGB de 1980 a 2006 en la parte sur del país. La prevalencia más baja fue en León Guanajuato, obteniendo 0.46% utilizando 433 muestras de gestantes con 37 o más semanas de gestación con dos muestras independientes, una del recto y otra de la vagina (Romero et al. 2005). La mayor prevalencia se observó en la Ciudad de México con 38.7%, detectaron EGB en muestras vaginales de mujeres embarazadas con previa infección urinaria por EGB; la mayoría de las muestras positivas correspondieron a mujeres con infección urinaria por EGB (Hernandez-Trejo y Soriano 2006). Las diferencias entre los estudios se pueden explicar en el diseño experimental. En el estudio más bajo, la prevalencia puede reducirse debido a dos muestras independientes que se han asociado con un hallazgo más bajo de EGB (El Aila et al. 2010), y en el caso más alto, la prevalencia debido a la infección urinaria por EGB se ha asociado como un factor de riesgo en mujer embarazada (De Melo et al. 2017). Tomando en cuenta esas variables, utilizando muestras vagino-rectales para obtener una mejor tasa de aislamiento, y preguntamos a las pacientes si tenían infecciones previas de EGB, ya que en nuestro estudio ninguna mujer embarazada presentó infección urinaria por EGB confirmada por medio de antecedentes clínicos, podemos explicar una de las razones por las cuales la prevalencia obtenida en este estudio tiene un nivel intermedio comparando con el resto de los estudios en México. Así, los datos obtenidos en estudios epidemiológicos pueden reflejar la efectividad de diferentes métodos asociados con la efectividad del muestreo y en nuestro caso, reflejar la epidemiología en pacientes en general, sin estar previamente asociadas con un factor de riesgo a la colonización de EGB.

Además, ninguno de los informes anteriores utilizó más de 1000 muestras. Dos estudios tienen más de 500 muestras; uno informó una prevalencia del 14% (n = 593) (Figuroa et al. 2007) y el otro 8,6% (n = 910) (Ocampo-Torres et al. 2000). Nuestras 1924 muestras, se pueden considera elevadas en comparación con el resto de los estudios. Por lo tanto, nuestros

resultados podrían considerarse más representativos. Sin embargo, esto podría no ser suficiente para determinar una estrategia sólida para la salud pública. Diferentes hospitales de una misma ciudad han presentado prevalencias diferentes. Por ejemplo, en el Hospital Clínico José de San Martín (Di Bartolomeo et al. 2005) determinaron que la prevalencia de EGB en mujeres embarazadas de 9,39%, mientras que en el Hospital Posadas obtuvieron una prevalencia de 18.15% (García et al. 2003). Ambos hospitales en Buenos Aires, Argentina. Por lo tanto, determinar la prevalencia en México es una tarea que requiere estudios en diferentes zonas del país, diferentes hospitales y en diferentes periodos de tiempo. Esto podría ser facilitado por el análisis de los datos en diferentes hospitales, sin embargo, esto no esclarecería las características que pudiera haber en cada cepa o brote. Este estudio contribuye para la generación de datos epidemiológicos de EGB, pero para la generación de lineamientos contra este patógeno es necesario establecer las características de las cepas presentes en territorio mexicano.

También encontramos diferencias significativas en la distribución de serotipos. Nuestros resultados mostraron que el serotipo más común observado fue el tipo II (19,2%). La mayoría de los estudios previos realizados en México no segregaron el serotipo I en Ia y Ib, mientras que otros informan que el más común es el serotipo Ia (Ippolito et al. 2010). Esto puede deberse a diferencias en la distribución de los serotipos en México y al método de serotipificación. Al utilizar un kit de serotipificación que facilita la definición del serotipo comparándola con de la técnica de inmunoprecipitación con los estudios más antiguos es más probable definir el serotipo de manera correcta y al mismo tiempo facilitar la identificación de serotipos considerados raros en la región. Además, encontramos el primer serotipo VIII EGB en México, un serotipo raro en la mayor parte del mundo con la excepción de Japón (Shabayek y Spellerberg 2018). Una de las principales razones para ser los primeros en encontrar este resultado es que este serotipo fue caracterizado y reconocido en el año 2000, mientras que la mayoría de los estudios se realizaron antes de este año, lo que imposibilita su detección. Por otro lado, este hallazgo puede indicar que la variabilidad de EGB puede aumentar debido a diversos factores como cambios en la etnia de la población y adaptación de las cepas que puedan causar el aumento en la prevalencia de ciertos serotipos.

La resistencia a los antibióticos es un problema mundial debido a las limitadas opciones de antibióticos utilizados en el tratamiento de infecciones bacterianas. Al evaluar la resistencia

a antibióticos de EGB utilizando VITEK 2. Obtuvimos el 64,8% de cepas resistentes a tetraciclina en contraste con el 29,6% de cepas sensibles a todos los antibióticos. Estudios anteriores han informado de una alta tasa de resistencia a la tetraciclina y la han correlacionado con la presencia de los genes tetM y tetK (Emanini et al. 2014; Hraoui et al. 2012). También encontramos la primera cepa en México con susceptibilidad reducida a los betalactámicos. Varios autores han informado de EGB con esta característica debido a la presencia de genes de proteínas ligantes de penicilina como pbp. Teniendo en cuenta que las cepas de EGB pueden mostrar altas tasas de resistencia a los antibióticos a otros fármacos, las pruebas de susceptibilidad de los aislados de EGB de mujeres embarazadas con alergia a la penicilina son cruciales para la elección del fármaco. Además, las pruebas de susceptibilidad a fármacos de todos los aislados de EGB de mujeres embarazadas podrían ser adecuadas para controlar la resistencia a fármacos de EGB (Moroi et al. 2019; Hayes et al. 2020).

La producción de biopelículas varió entre cepas con diferentes serotipos. Obtuvimos que EGB serotipo Ib es el serotipo con mayor producción de biopelícula, cinco de ellos fueron productores moderados y uno productor fuerte. Su producción de biopelícula fue significativamente mayor que la de los serotipos Ia, II, III, IV, V, VIII y NT. Otros autores han demostrado que la producción de biopelículas varía considerablemente en este conjunto diverso de cepas de EGB. Los factores asociados con una fuerte producción de biopelículas son la fuente de la cepa de humanos y ganado, el tipo de pili que se presentan en las cepas y adhesinas (Rosini y Margrit 2015; Shabayek y Spellerberg 2018; Parker et al. 2016).

Harmeet et al. 2009 menciona en su estudio que los serotipos con mayor formación de biofilm fueron los serotipos Ia y Ib, mientras que los serotipos con menor producción fueron los no tipificables, menciona que existen estudios que sugieren que la Proteína  $\alpha$ -C es de gran importancia en la unión e invasión de EGB en humanos y que dicha proteína estaba presente en mayor cantidad en los serotipos Ia y Ib a comparación de los no-tipificables que tienen una proporción más baja de esta proteína. En este estudio se demostró que existe una alta producción de biofilm en ambos serotipos Ia y Ib ya que representan mayores índices de formación de biofilm. En comparación con nuestros resultados, D'Urzo et al. en 2014 menciona que la mayoría de las cepas del serotipo III tienen una mayor producción de biofilm en presencia de glucosa y pH bajo (4.5 a 5 pH), empleando diferentes metodologías, entre

ellas con CV donde determinó que el pH ácido puede regular la expresión de diferentes proteínas de superficie que son formadoras de biofilm, estos resultados pueden ser diferentes gracias a las concentraciones de pH y glucosa diferentes a los de nuestro estudio. Nuestra metodología fue muy parecida a la empleada por D'Urzo con CV, pero las muestras estuvieron en diferentes condiciones de pH y glucosa que el estudio. YuehRen et al. en 2012 menciona que los serotipos con mayor formación de biofilm fueron el III y V en presencia de pH ácidos (pH 4.5 y 5) con una diferencia significativa entre los demás serotipos analizados (Ia y Ib), además menciona que aunque los serotipos III y V fueron productores fuertes, los serotipos Ia y Ib fueron predominantes en los productores moderados ( $DO595 < 1.36$ ) y altos ( $DO595 > 1.36$ ), lo cual concuerda con nuestros resultados donde dichos serotipos tuvieron en la mayoría de sus muestras resultados de producción moderada, también menciona que dichos resultados son gracias a la presencia de pH bajos a los cuales fueron expuestas las muestras pero que no descarta que haya factores específicos de la cepa, otros componentes como la sal, osmolaridad y iones metálicos que tengan algún efecto en la producción de biofilm en EGB.

En este estudio se evaluó la capacidad formadora de biofilm de diferentes serotipos de EGB por lo cual se obtuvieron resultados con diferencia significativa entre el serotipo con mayor productor de biofilm y el menor productor de biofilm, más no se descarta la posibilidad de que haya factores específicos de cada cepa o el nivel de pH lo que puede influir en su capacidad de producir biofilm.

Los análisis de secuenciación de DNA de aislados de EGB muestran la diversidad genética entre diferentes aislados y se ha demostrado que, aunque pertenezcan a diferentes serotipos pueden tener más similitudes que con cepas del mismo serotipo. El nivel de diversidad genética de EGB y los patrones evolutivos no se reflejan adecuadamente con la clasificación de serotipos; por lo tanto, el nivel de heterogeneidad varía ampliamente (Grundmann et al 2001; Tattellini et al. 2005). En nuestro estudio encontramos un gran nivel de diversidad entre los aislados teniendo casi en su totalidad muestras con diferentes patrones clonales. En el caso de las muestras del serotipo VIII de la madre y su neonato, y las muestras 1808m V (proveniente de la madre) y 1808b V (proveniente del neonato), se encontró que compartían el mismo patrón de banda comparándolas entre la madre y su producto. Los resultados concuerdan con las conclusiones en el estudio de Pallai et al. (2009) que indican que en

algunos casos la serotipificación puede ser subrogada en caso de que los aislados provengan de una misma fuente como puede ser el caso en el que la madre transmita a EGB a su neonato al momento del nacimiento.

En este estudio se evaluó la prevalencia de EGB en mujeres embarazadas, y se aisló EGB de las muestras positivas. Los aislados obtenidos fueron caracterizados teniendo en cuenta la capacidad de formación de biofilm, resistencia a antibióticos y subtipificados mediante PFGE. Los resultados muestran que los aislados son variables en cuanto a sus características fenotípicas y genotípicas, lo que se debe tener en cuenta a la hora de establecer lineamientos para su detección y tratamiento.

## IX. CONCLUSIONES

- En este estudio se identificaron 54 aislados de EGB mostrando un 2.6% de prevalencia en 1924 muestras obtenidas.
- No se encontró ninguna asociación estadística entre la presencia de EGB y factores socio-económicos de las pacientes embarazadas
- Los serotipos encontrados en las madres fueron: Ia 8 (15.38%), Ib 6 (11.53%), II 10 (19.2%), III 9 (17.3%), IV 9 (17.3%), V 5 (9.6%), VIII 1 (1.9%) y NT 4 (7.69%).
- El antibiótico que presentó una resistencia más frecuente en EGB fue la tetraciclina, con la mayoría de los aislados resistentes a este antibiótico
- La resistencia a la eritromicina y a la clindamicina fue de nivel intermedio, sin embargo, una de las cepas presentó una resistencia completa a estos antibióticos, por lo que monitorear la resistencia a antibióticos puede ser relevante en estudios futuros.
- Se encontró el primer aislado (1875 III) de EGB con múltiple resistencia a antibióticos en México.
- El serotipo Ib tuvo una mayor producción de biofilm en comparación a los demás serotipos analizados y el serotipo IV obtuvo una menor producción de biofilm.
- Las cepas encontradas en las madres y neonatos fueron adquiridas mediante transmisión horizontal y no transmisión nosocomial.

## **X. PERSPECTIVAS**

Evaluar la producción de anticuerpos en los sueros obtenidos de las pacientes embarazadas para contribuir a determinar las causas de la ausencia de infecciones invasivas causadas por EGB en la población estudiada.

Evaluar la presencia de factores de virulencia de los aislados para determinar el potencial patogénico de cada uno y observar mutaciones que puedan hacerla menos patógena para madres y neonatos.

Definir los mecanismos de resistencia a antibióticos para determinar la probabilidad de transmisión de la resistencia a otras bacterias del género estudiado.

## XI. BIBLIOGRAFIA

Spellberg B, Brandt C. 2015. *Streptococcus*, In Manual of Clinical Microbiology 11<sup>th</sup> Edition, pp: 383-403, Washinton, D.C. United States of America, American Society of Microbiology Press.

Eickhoff TC, Klein JO, Daly AK, Ingall D, Finland M. 1964. Neonatal sepsis and other infections due to group B beta-hemolytic streptococci. *New England Journal of Medicine*, 10(271), 1221-122.

Dillon HC, Khare S, Gray BM. 1987. Group B streptococcal carriage and disease: a 6-year prospective study. *J Pediatr* 110:31-36.

Nauzeef WM. 2007. Isolation of Human Neutrophils from Venous Blood. In *Neutrophil Methods and Protocol*. Quinn MT, DeLeo FR, Bokoch GM. (eds). Humana Press, pp. 15-20.

Nizet V, Ferrieri P, Rubens CE. 2000. Molecular pathogenesis of group B streptococcal disease in newborns. In *Streptococcal Infections: Clinical Aspects, Microbiology, and Molecular Pathogenesis*. Stevens, D.L., and Kaplan, E.L. (eds). New York: Oxford University Press, pp. 180–221.

Minkoff HL, Sierra MF, Pringle GF, Schwarz RH. 1982. Vaginal colonization with Group B beta-hemolytic *streptococcus* as a risk factor for post-cesarean section febrile morbidity. *Am J Obstet Gynecol* 142 : 992-5.

Regan JA, Klebanoff MA, Nugent RP. 1991. Vaginal Infections and Prematurity Study Group. The epidemiology of group B streptococcal colonization in pregnancy. *Obstet Gynecol* 77:604–610

Edwards MS, Baker CJ. 2005. Group B streptococcal infections in elderly adults. *Clin Infect Dis* 41:839–47.

Farley MM. 2001. Group B streptococcal disease in non-pregnant adults. *Clin Infect Dis*. 33(4):556- 561

Sendi P, Johansson L, Norrby-Teglund A. 2008. Invasive group B Streptococcal disease in non-pregnant adults: a review with emphasis on skin and soft-tissue infections. *Infection* 36:100–111.

- Skoff TH, Farley MM, Petit S, Craig AS, Schaffner W, Gershman K, Harrison LH, Lynfield R, Mohle-Boetani J, Zansky S, Albanese BA, Stefonek K, Zell ER, Jackson D, Thompson T, Schrag SJ. 2009. Increasing burden of invasive group B streptococcal disease in nonpregnant adults, 1990-2007. *Clin. Infect. Dis.* 49:85–92.
- Brzychczy-Wloch M, Gosiewski T, Bodaszewska M, Pabian W, Bulanda M, Kochan P, Strus M, Heczko PB. 2010. Genetic characterization and diversity of *Streptococcus agalactiae* isolates with macrolideresistance. *J Med Microbiol* 59(Pt 7):780–6
- Perez-Ruiz M, Rodríguez-Granger JM, Bautista-Marín MF, Romero-Noguera J, Rosa-Fraile M. 2004. Genetic diversity of *Streptococcus agalactiae* strains colonizing the same pregnant woman. *Epidemiol Infect* 132:375–378
- Meyn LA, Krohn MA, Hillier SL. 2009. Rectal colonization by group B *Streptococcus* as a predictor of vaginal colonization. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 201:76–76.
- Winn HN. 2007. Group B *Streptococcus* infection in pregnancy. *Clin Perinatol* 34(3):387-392
- Pearlman M. 2002. Prevention of early-onset group B streptococcal disease in newborns. *Obstet Gynecol.* 100:1405-1412.
- Manning SD, Springman AC, Lehotzky E, Lewis MA, Whittam TS, Davies HD. 2009. Multilocus sequence types associated with neonatal group B streptococcal sepsis and meningitis in Canada. *J Clin Microbiol* 47:1143–1148
- Gendrin C, Vornhagen J, Ngo L, Whidbey C, Boldenow E, Santana-Ufret V, Clauson M, Burnside K, Galloway DP, Adams-Waldorf KM, Piliponsky AM, Rajagopal L. 2015. Mast cell degranulation by a hemolytic lipid toxin decreases GBS colonization and infection. *Sci Adv.* 1(6):1-16.
- Vornhagen J, Adams-Waldorf KM, Rajagopal L. 2017. Perinatal Group B Streptococcal Infections: Virulence Factors, Immunity, and Prevention Strategies. *Trends Microbiol.* 25(11):919–931.
- Park SY, Park Y, Chung JW, Huh HJ, Chae SL, Kim YA, Lee SS. 2014 Group B streptococcal bacteremia in non-pregnant adults: results from two Korean centers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 33:1785–1790

Boldenow E, Gendrin C, Ngo L, Bierle C, Vornhagen J, Coleman M, Merillat S, Armistead B, Whidbey C, Alishetti V, Santana-Ufret V, Ogle J, Gough M, Srinouanprachanh S, MacDonald JW, Bammler TK, Bansal A, Liggitt HD, Rajagopal L, Adams Waldorf KM. 2016. Group B *Streptococcus* circumvents neutrophils and neutrophil extracellular traps during amniotic cavity invasion and preterm labor. *Sci Immunol.* 1(4):1-13.

Ali SR, Fong JJ, Carlin AF, Busch TD, Linden R, Angata T, Areschoug T, Parast M, Varki N, Murray J, Nizet V, Varki A. 2014. Siglec-5 and Siglec-14 are polymorphic paired receptors that modulate neutrophil and amnion signaling responses to group B *Streptococcus*. *Journal of Experimental Medicine*, 211(6):1231–1242.

Aoyagi Y, Adderson EE, Min JG, Matsushita M, Fujita T, Takahashi S, Okuwaki Y, Bohnsack JF. 2005. Role of L-Ficolin/Mannose-Binding Lectin-Associated Serine Protease Complexes in the Opsonophagocytosis of Type III Group B Streptococci. *The Journal of Immunology.* 174(1):418-425.

Edwards MS, Baker CJ. 2005. Group B streptococcal infections in pregnancy. *Western Journal of Medicine.* 161(2):160–161.

Bartlett AW, Smith B, George CRR, McMullan B, Kesson A, Lahra MM, Palasanthiran P. 2017. Epidemiology of Late and Very Late Onset Group B Streptococcal Disease: Fifteen-Year Experience from Two Australian Tertiary Pediatric Facilities. *Pediatric Infectious Disease Journal.* 36(1):20–24.

Bellais S, Six A, Fouet A, Longo M, Dmytruk N, Glaser P, Trieu-Cuot P, Poyart C. 2012. Capsular switching in group B streptococcus CC17 hypervirulent clone: A future challenge for polysaccharide vaccine development. *Journal of Infectious Diseases.* 206(11):1745–1752.

Bianchi-Jassir F, Seale AC, Kohli-Lynch M, Lawn JE, Baker CJ, Bartlett L, Cutland C, Gravett MG, Heath PT, Ip M, Le-Doare K, Madhi SA, Saha SK, Schrag S, Sobanjo-Ter Meulen A, Vekemans J, Rubens CE. 2017. Preterm Birth Associated with Group B Streptococcus Maternal Colonization Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. *Clinical Infectious Diseases.* 65(1):S133–S142.

Bosch-Mestres J, Martín-Fernández RM, Jiménez de Anta-Losada MT. 2003. Estudio comparativo de tres medios de cultivo para detectar la colonización por estreptococo del

grupo B en la mujer embarazada. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 21(7):346–349.

Braunstein H, Tucker EB, Gibson BC. 1969. Identification and Significance of *Streptococcus agalactiae* (Group B streptococcus). *Tub american jodbnal of clinical pathology*. 51(2):207-213.

Caliot E, Dramsi S, Chapot-Chartier MP, Courtin P, Kulakauskas S, Péchoux C, Trieu-Cuot P, Mistou MY. 2012. Role of the group B antigen of *Streptococcus agalactiae*: A peptidoglycan-anchored polysaccharide involved in cell wall biogenesis. *PLoS Pathogens*. 8(6):1-13.

Centers for Disease Control and Prevention. 2010. CDC. Obtenido de CDC: <http://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/gbs09.pdf>

Chang YC, Olson J, Beasley FC, Tung C, Zhang J, Crocker PR, Varki A, Nizet V. 2014. Group B *Streptococcus* Engages an Inhibitory Siglec through Sialic Acid Mimicry to Blunt Innate Immune and Inflammatory Responses In Vivo. *PLoS Pathogens* 10(1):1-11.

D'Urzo N, Martinelli M, Pezzicoli A, De-Cesare V, Pinto V, Margarit I, Telford JL, Maione D, Melin P, Decheva A, Petrunov B, Kriz P, Berner R, Büchele A, Hufnagel M, Kunze M, Creti R, Badassari L, Berardi, A. Efstratiou A. 2014. Acidic pH strongly enhances in vitro biofilm formation by a subset of hypervirulent ST-17 *Streptococcus agalactiae* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(7):2176–2185.

Bunney PE, Zink AN, Holm AA, Billington CJ, Kotz CM. 2017. Orexin activation counteracts decreases in nonexercise activity thermogenesis (NEAT) caused by high-fat diet. HHS Public Access. *Physiology & Behavior* 176(3):139–148.

Doran KS, Nizet V. 2004. Molecular pathogenesis of neonatal group B streptococcal infection: No longer in its infancy. *Molecular Microbiology*. 54(1):23–31.

Edwards MS, Rench MA, Rinaudo CD, Fabbrini M, Tuscano G, Buffi G, Bartolini E, Bonacci S, Baker CJ, Margarit I. 2016. Immune responses to invasive group B streptococcal disease in adults. *Emerging Infectious Diseases*. 22(11):1877–1883.

El Aila NA, Tency I, Claeys G, Saerens B, Cools P, Verstraelen H, Temmerman M, Verhelst R, Vaneechoutte M. 2010. Comparison of different sampling techniques and of different

culture methods for detection of group B streptococcus carriage in pregnant women. *BMC Infectious Diseases*. 285(10):1-8

Facklam R. (2002). What Happened to the Streptococci: Overview of Taxonomic and Nomenclature Changes. *Clinical Microbiology Review*. 8:613–630.

Figueroa JR, Ibarra FJO, Jaramillo AE, Román GC. 2007. Colonización materna por *Streptococcus* del grupo B en México: Estimación de la prevalencia basada en la revisión bibliográfica. *Ginecología y Obstetricia de Mexico*. 75(7):399–403.

Fry RM. 1938. Fatal Infections By Haemolytic *Streptococcus* Group B. *The Lancet*. 231(5969):199-201.

Gibbs RS, Schrag S, Schuchat A. 2004. Perinatal infections due to group B *Streptococci*. *Obstetrics and Gynecology*. 104(5):1062-1076.

Feldman RG, Rijkers GT, Hamel ME, David S, Zegers BJM. 1998. The Group B Streptococcal Capsular Carbohydrate: Immune Response and Molecular Mimicry, In: *Glycoimmunology 2* (Vol. 435), Axford JS (ed). pp261-271.

Kong F, Gowan S, Martin D, James G, Gilbert GL. 2002. Serotype Identification of Group B *Streptococci* by PCR and Sequencing. *Journal of Clinical Microbiology*. 40(1):216–226

Konto-Ghiorghi Y, Mairey E, Mallet A, Duménil G, Caliot E, Trieu-Cuot P, Dramsi S. 2009. Dual role for pilus in adherence to epithelial cells and biofilm formation in *Streptococcus agalactiae*. *PLoS Pathogens*, 5(5):1-13.

Korir ML, Manning SD, Davies HD. 2017. Intrinsic maturational neonatal immune deficiencies and susceptibility to group B streptococcus infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 30(4):973–989.

Lancefield BR. 1932. A Serological Differentiation of Human and Other Groups of Hemolytic *Streptococci* (From the Hospital of The Rockefeller Institute for Medical Research). 1919(1):571-595.

Lancefield BR, Hare R. 1935. The Serological Differentiation Of Pathogenic And Non-Pathogenic Strains Of Hemolytic *Streptococci* From Parturient Women (From the Hospital of The Rockefeller Institute for Medical Research, New York, and the Bernhard Baron Memorial Research Laboratory).

- Lazarus JM, Sellers DP, Marine WM. 1965. Meningitis Due to Group B Beta-Haemolytic Streptococcus. *The New England Journal of Medicine*. 272(3):146-147.
- Lin SM, Zhi Y, Ahn KB, Lim S, Seo HS. 2018. Status of group B streptococcal vaccine development. *Clinical and Experimental Vaccine Research*. 7(1):76–81.
- Macauley MS, Crocker PS, Paulson JC. 2013. Siglec regulation of immune cell function in disease. *Nat Rev Immunol*. 14(10):653–666.
- MacFarquhar JK, Jones TF, Woron AM, Kainer MA, Whitney CG, Beall B, Schrag SJ, Schaffner W. 2010. Outbreak of late-onset group B Streptococcus in a neonatal intensive care unit. *American Journal of Infection Control*. 38(4):283–288.
- Margarit I, Rinaudo CD, Galeotti CL, Maione D, Ghezzi C, Buttazzoni E, Rosini R, Runci Y, Mora M, Buccato S, Pagani M, Tresoldi E, Berardi A, Creti R, Baker CJ, Telford JL, Grandi G. 2009. Preventing Bacterial Infections with Pilus-Based Vaccines: the Group B Streptococcus Paradigm. *Journal of Infectious Diseases*. 199(1):108–115.
- Mavenyengwa RT, Maeland JA, Moyo SR. 2008. Distinctive features of surface-anchored proteins of streptococcus agalactiae strains from Zimbabwe revealed by PCR and dot blotting. *Clinical and Vaccine Immunology*. 15(9):1420–1424.
- Melin P. 2011. Neonatal group B streptococcal disease: From pathogenesis to preventive strategies. *Clinical Microbiology and Infection*. 17(9):1294–1303.
- Morinis J, Shah J, Murthy P, Fulford M. 2010. Horizontal transmission of group B streptococcus in a neonatal intensive care unit. *Paediatr Child Health*. 16(6):1-5.
- Palacios GC, Eskew EK, Solorzano F, Mattingly SJ. 1999. Identification of the high-virulence clone of group B streptococci in Mexican isolates by growth characteristics at 40°C. *Current Microbiology*, 38(2):126–131.
- Parker RE, Laut C, Gaddy JA, Zadoks RN, Davies HD, Manning SD. 2016. Association between genotypic diversity and biofilm production in group B Streptococcus. *BMC Microbiology*, 16(1):1-12.
- Patras KA, Nizet V. 2018. Group B Streptococcal maternal colonization and neonatal disease: Molecular mechanisms and preventative approaches. *Frontiers in Pediatrics*, 6(2):1–17.

Phares CR, Lynfield R, Farley MM, Mohle-Boetani J, Harrison LH, Petit S, Craig AS, Schaffner W, Zansky SM, Gershman K, Stefonek KR, Albanese BA, Zell ER, Schuchat A, Schrag SJ. 2008. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *JAMA-Journal of the American Medical Association*. 299(17):2056–2065.

Pilsczek FH, Salina D, Poon KKH, Fahey C, Yipp BG, Sibley CD, Robbins SM, Green FH, Surette MG, Sugai M, Bowden MG, Hussain M, Zhang K, Kubes P. 2010. A Novel Mechanism of Rapid Nuclear Neutrophil Extracellular Trap Formation in Response to *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Immunology*. 185(12):7413–7425.

Rajagopal L. 2009. Understanding the regulation of Group B Streptococcal virulence factors. *Future Microbiology*, 4(2):201–221.

Rosini R, Margarit I. 2015. Biofilm formation by *Streptococcus agalactiae*: Influence of environmental conditions and implicated virulence factor. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5(2):2013–2016.

Russell NJ, Seale AC, O’Driscoll M, O’Sullivan C, Bianchi-Jassir, F, Gonzalez-Guarin, J, Lawn JE, Baker CJ, Bartlett L, Cutland C, Gravett MG, Heath PT, Le-Doare K, Madhi SA, Rubens CE, Schrag S, Sobanjo-Ter Meulen A, Vekemans J, Saha SK, Ip M. 2017. Maternal Colonization with Group B Streptococcus and Serotype Distribution Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. *Clinical Infectious Diseases*. 65(3):S100–S111.

Schuchat A. 1998. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: Shifting paradigms. *Clinical Microbiology Reviews*. 11(3):497–513.

Shabayek S, Spellerberg B. 2018. Group B streptococcal colonization, molecular characteristics, and epidemiology. *Frontiers in Microbiology*, 9(3):1–14.

Shet A, Ferrieri P. 2004. Neonatal & maternal group B streptococcal infections: A comprehensive review. *Indian Journal of Medical Research*. 120(3):141–150.

Teatero S, Ferrieri P, Martin I, Demczuk W, McGeer A, Fittipaldi N. 2017. Serotype distribution, population structure, and antimicrobial resistance of group B Streptococcus strains recovered from colonized pregnant women. *J Clin Microbiol*. 55:412–422

Tettelin H, Massignani V, Cieslewicz MJ, Donati C, Medini D, Ward NL, Angiuoli SV, Crabtree J, Jones AL, Durkin AS, Deboy RT, Davidsen TM, Mora M, Scarselli M, Margarit

I, Peterson JD, Hauser CR, Sundaram JP, Nelson WC, Fraser CM. 2005. Erratum: Genome analysis of multiple pathogenic isolates of *Streptococcus agalactiae*: Implications for the microbial “pan-genome” (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (September 27, 2005) 102, 39 (13950-13955)). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102(45), 16530.

Verani JR, McGee L, Schrag SJ. 2010. Morbidity and Mortality Weekly Report Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. Morbidity and Mortality Weekly Report, 59(RR-10):1–31.

Vornhagen J, Armistead B, Santana-Ufret V, Gendrin C, Merillat S, Coleman M, Quach P, Boldenow E, Alishetti V, Leonhard-Melief C, Ngo LY, Whidbey C, Doran KS, Curtis C, Adams-Waldorf KM, Nance E, Rajagopal L. 2018. Group B streptococcus exploits vaginal epithelial exfoliation for ascending infection. *Journal of Clinical Investigation*. 128(5):1985–1999.

Yang Q, Porter AJ, Zhang M, Harrington DJ, Black GW, Sutcliffe IC. 2012. The impact of pH and nutrient stress on the growth and survival of *streptococcus agalactiae*. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*. 102(2):277–287. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9736-9>.

Mathilde Gavillet,<sup>1</sup> Kimberly Martinod,<sup>2,4</sup> Raffaele Renella,<sup>1,3,4</sup> Chad Harris,<sup>1</sup> Nate I. Shapiro,<sup>5</sup> Denisa D. Wagner,<sup>1,2,4</sup> and David A. Williams<sup>1,3,4</sup> Gavillet M, Martinod K, Renella R, Harris C, Shapiro NI, Wagner DD, Williams DA. 2015. Flow cytometric assay for direct quantification of neutrophil extracellular traps in blood samples. *American Journal of Hematology*. 90(12):1155–1158.

Grundmann H, Hori S, Tanner G. 2001. Determining confidence intervals when measuring genetic diversity and the discriminatory abilities of typing methods for microorganisms. *Journal of Clinical Microbiology*. 39:4190–4192.

## **XII. RESUMEN BIOGRAFICO**

L.C.A José Alfredo González Navarro

Candidato para el Grado de

Maestro en Ciencias con Orientación en Inmunología

Tesis: EPIDEMIOLOGÍA Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE AISLADOS CLÍNICOS DE *Streptococcus agalactiae* DE UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL EN EL NORESTE DE MÉXICO

Campo de estudio: Ciencias de la Salud

Datos personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León el 4 de agosto de 1995, hijo de Rafael González de León y María Guadalupe Navarro Oviedo.

Educación: Egresado de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido de Licenciado en Ciencias de Alimentos en 2019.

Experiencia profesional:

Coordinador de Operaciones de FIQA Innovación y Calidad Alimentaria SC.

### XIII. ANEXOS

#### Anexo I.

Instituto Mexicano del Seguro Social  
UMAE Hospital de Ginecobstetricia No. 23

#### FORMATO DE RECOLECCION DE DATOS

**Título del proyecto de investigación:** "Epidemiología clínica y molecular de la infección perinatal por *Estreptococo* 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, financistas, 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 profesion 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 algun 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 \_\_\_\_\_

## **Anexo II.**



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 *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 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 *Streptococo* 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 *Streptococo* 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



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: [dramilcarcaballero@hotmail.com](mailto:dramilcarcaballero@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**

Envió de publicación: Your submission entitled 'Prevalence, serotype distribution, antimicrobial resistance, and genomic analysis of virulence factors of group B streptococcus isolated among pregnant women from northeastern Mexico.' has been received by Journal of Medical Microbiology

7/16/2021

Correo: alfredo.gonzalez - Outlook

**Submission confirmation for JMM-D-21-00430 in Journal of Medical Microbiology - [EMID:e56c88b438ba79bd]**

JMM <em@editorialmanager.com>

Vie 16/07/2021 12:48 PM

Para: Jose Alfredo Gonzalez-Navarro <alfredo-576@hotmail.com>

You are being carbon copied ("cc'd") on an e-mail "To" "Lydia Guadalupe Rivera-morales"

lydiariver@gmail.com

CC: "Gerardo del Carmen Palacios-Saucedo" palsaugc@gmail.com, "Jose Manuel Vazquez-Guillen" jmvazquezg1@gmail.com, "Amilcar Caballero-Trejo" caballero.pediatra@gmail.com, "Melissa Carolina Mellado-García" mellado.melissa@hotmail.com, "Aldo Sebastian Flores-Flores" aldoflores96.01@gmail.com, "Jose Alfredo Gonzalez-Navarro" alfredo-576@hotmail.com, "Celia Geovana Herrera-Rivera" cgeoherrera@gmail.com, "Luis Ernesto Osuna-Rosales" leosunar@gmail.com, "Julio Antonio Hernandez-Gonzalez" jahernan04@cibnor.mx, "Ricardo Vazquez-Juarez" rvazquez04@cibnor.mx, "Carolina Barron-Enriquez" proteina.cbe@gmail.com, "Ramon Valladares-Trujillo" ramonvalladares@hotmail.com, "Joaquin Dario Treviño-Baez" joaqdtb@gmail.com, "Luis Daniel Ramirez-Calvillo" daniel.rcal@outlook.com, "Ricardo Martín Cerda-Flores" ricardocerda\_mx@yahoo.com.mx, "Rocio Ortiz-Lopez" rortizlopez@gmail.com, "Miguel Angel Rivera-Alvarado" dr\_rivera\_alvarado@hotmail.com, "Fortino Solorzano-Santos" solorzanof056@gmail.com, "Cristina Rodriguez-Padilla" crrodrig07@gmail.com

Manuscript number: JMM-D-21-00430

Title: Prevalence, serotype distribution, antimicrobial resistance, and genomic analysis of virulence factors of group B streptococcus isolated among pregnant women from northeastern Mexico.

Authors: Gerardo del Carmen Palacios-Saucedo; Lydia Guadalupe Rivera-morales; Jose Manuel Vazquez-Guillen; Amilcar Caballero-Trejo; Melissa Carolina Mellado-García; Aldo Sebastian Flores-Flores; Jose Alfredo Gonzalez-Navarro; Celia Geovana Herrera-Rivera; Luis Ernesto Osuna-Rosales; Julio Antonio Hernandez-Gonzalez; Ricardo Vazquez-Juarez; Carolina Barron-Enriquez; Ramon Valladares-Trujillo; Joaquin Dario Treviño-Baez; Luis Daniel Ramirez-Calvillo; Ricardo Martín Cerda-Flores; Rocio Ortiz-Lopez; Miguel Angel Rivera-Alvarado; Fortino Solorzano-Santos; Cristina Rodriguez-Padilla

Dear Dr. Rivera-morales,

Your submission entitled 'Prevalence, serotype distribution, antimicrobial resistance, and genomic analysis of virulence factors of group B streptococcus isolated among pregnant women from northeastern Mexico.' has been received by *Journal of Medical Microbiology*.

You will be able to check on the progress of your manuscript by logging on to Editorial Manager as an author.

The URL is <https://www.editorialmanager.com/jmm/>.

Your manuscript reference number is JMM-D-21-00430. Please use this in all correspondence relating to this manuscript.

Due to the continued spread of SARS-CoV-2, many of our Editors are facing increased pressures and disruption from the closure of universities and movement to online-teaching. As such, the peer review

<https://outlook.live.com/mail/05f1b0x5d4AQQAADAwATZ2mYAZC1HMjg1LTE0MWWJMDACLTAwCpAQAIR7M6Tw1ZDtp5ST2cEqk%3D>

1/2

7/18/2021

Correo: alfredo.gonzalez - Outlook

process may take slightly longer than usual. We appreciate your patience and understanding during this time.

Thank you for submitting your work to *Journal of Medical Microbiology*, a Microbiology Society journal.

Kind regards,  
Editorial Office  
*Journal of Medical Microbiology*  
Microbiology Society | [microbiologyresearch.org](http://microbiologyresearch.org)

Browse our [Collections](#) – peer reviewed content from across the Society's publishing platform on a range of hot topics and subject areas, including [Microbe Profiles](#) and [ICTV Virus Taxonomy Profiles](#) ([www.microbiologyresearch.org/content/collections](http://www.microbiologyresearch.org/content/collections)).

---

*In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. ([Remove my information/details](#)). Please contact the publication office if you have any questions.*