

ARTICULO ORIGINAL

DOI: <http://dx.doi.org/10.14482/sun.36.2.618.2>

Eficacia de una prueba molecular en el diagnóstico del *Streptococcus agalactiae* en pacientes gestantes de la ciudad de Santa Marta (Colombia)

Efficacy of a molecular test in the diagnosis of Streptococcus agalactiae in pregnant patients from the city of Santa Marta (Colombia)

YOLIMA BERENA PERTUZ MEZA¹, GISELA ESTHER GONZÁLEZ RUIZ²

¹ Microbióloga, Magíster en Microbiología molecular, docente investigadora de la Facultad de Enfermería de la Universidad Cooperativa de Colombia, sede Santa Marta. yolima.pertuz@campusucc.edu.co. Teléfono: 3155594790. <http://orcid.org/0000-0001-6928-4249>

² Magíster en Ciencias Básicas Biomédicas, doctora en Ciencias Gerenciales, Facultad de Enfermería de la Universidad Cooperativa de Colombia, sede Santa Marta. Teléfono: 3003221132. Gisela.1060@gmail.com. <http://orcid.org/0000-0002-0977-1077>

Correspondencia: Yolima Pertuz Meza. Universidad Cooperativa de Colombia, sede Santa Marta. Teléfono: 3155594790. yoliperme@yahoo.com yolima.pertuz@campusucc.edu.co

■ RESUMEN

Objetivos: Determinar la eficacia de una prueba molecular en el diagnóstico del *Streptococcus agalactiae* o *Streptococcus* beta hemolítico del grupo B (SGB), en gestantes Samarias.

Métodos: Estudio evaluativo con diseño no experimental, llevado a cabo en una población de 100 mujeres entre 35 y 37 semanas de gestación, de la cual se calculó una muestra probabilística de 80 pacientes, con nivel de confianza de 95 % y margen de error de 5 %. La prueba utilizada para la evaluación de eficacia fue la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, la cual permite amplificar secuencias específicas de ácido desoxirribonucleico (ADN) a más de un billón de veces, confrontadas con una prueba rutinaria utilizando el medio Cromogénico (CHROMagar) orientador. Se respetaron los criterios éticos definidos para estudios en humanos.

Resultados: Edad promedio de la población 27 años; con la aplicación de la prueba molecular (PCR en tiempo real) se detectaron 42/80 pacientes colonizadas por SGB, correspondiente a una positividad del 52 %; prueba que demostró sensibilidad de 65, especificidad de 93, valor predictivo positivo (VPP) 91,2 y valor predictivo negativo (VPN) 73,1; mientras que con la prueba de comparación el nivel de positividad fue del 5 % (4/80), con una sensibilidad de 6,2, especificidad de 3, VPP 8,8 y VPN 26,9.

Conclusiones: La prueba PCR en tiempo real, como prueba molecular utilizada, mostró mayor eficacia a la hora de diagnosticar casos de *Streptococcus agalactiae* beta hemolítico del grupo B (SGB) al ser confrontada con la prueba rutinaria.

Palabras clave: *Streptococcus agalactiae*, diagnóstico, reacción en cadena de la polimerasa, eficacia.

■ ABSTRACT

Objectives: To determine the efficacy of a molecular test in the diagnosis of *Streptococcus agalactiae* or beta hemolytic group B (SGB); in Samaritan pregnant women.

Methods: Evaluative study with no experiment design; carried out in a population of 100 women between 35 and 37 weeks of gestation, from which a probabilistic sample of 80 patients was calculated, with a confidence level of 95% and margin of error of 5%. The test used for the evaluation of effectiveness was the real-time polymerase chain reaction (PCR) which allows to amplify specific sequences of deoxyribonucleic acid (DNA) more than one billion times, compared with a routine test using the Chromogenic (CHROMagar) guiding medium. The ethical criteria defined for human studies were respected.

Results: Average age of the population 27 years; with the application of the molecular test (real-time PCR) 42/80 patients were detected colonized by GBS, corresponding to a positivity of 52%, a test that showed sensitivity of 65, specificity 93, PPV 91.2 and NPV 73.1; whereas with the comparison test the positivity level was 5% (4/80), with a sensitivity of 6.2, specificity of 3, PPV 8.8 and NPV 26.9.

Conclusions: The real-time PCR test, as molecular test used, showed greater efficacy when diagnosing cases of group B beta hemolytic *Streptococcus agalactiae* (GBS), when confronted with the routine test.

Keywords: *Streptococcus agalactiae*, Diagnosis, Polymerase chain reaction, Efficacy.

INTRODUCCIÓN

El *Streptococcus agalactiae* o *Streptococcus* beta hemolítico del grupo B (SGB) es una bacteria que hace parte de la microbiota normal del recto y tracto genital humano; pertenece a la flora normal del aparato genital femenino (1) La incidencia de colonización en pacientes gestantes varía del 5 al 35 % y depende de factores como la población estudiada, el número de muestras cultivadas y la técnica de cultivo empleada (2).

Resulta de interés científico probar técnicas que permitan una mejor identificación diagnóstica que aporte a la prevención de las infecciones bacterianas de transmisión vertical (3).

Por otro lado, el *Streptococcus agalactiae* es un microorganismo importante cuando se analizan casos de sepsis neonatal precoz de origen bacteriano, infección neonatal y materna, desplazando al segundo lugar a la *Escherichia coli*. La transmisión vertical se produce en un 40 a 70 % de las pacientes con cultivos positivos para SGB(3,4).

El Center for Disease Control and Prevention (CDC) estableció en 1996 dos recomendaciones para prevenir la infección neonatal por SGB: La primera, realizar cultivo de exudado rectal y vaginal en las semanas 35 a 37 de gestación para luego administrar profilaxis intraparto a todas las portadoras de SGB (5). Además, se requiere la aplicación de técnicas adecuadas en la toma de la muestra para lograr el máximo de detección de portación. Si se toma solo vaginal y no anal, se pierde gran parte de las pacientes colonizadas. (6)

Teniendo en cuenta que existe variabilidad en la colonización materna, hay infecciones invasivas en neonatos por SGB, por lo tanto, se hace necesario el tamizaje, para así ofrecer profilaxis y tratamientos oportunos (7,8,9).

Sin embargo, el cultivo de exudado rectal y vaginal en las semanas 35 a 37 semanas de gestación, en pro de ampliar el rango de verdaderos positivos, puede considerarse como una prueba de tamizaje, siendo necesario incluir una prueba molecular que asegure un diagnóstico con mayor precisión, para atacar la infección en la etapa del embarazo en la mujer y prevenir infecciones graves del recién nacido por infección vertical.

En Colombia, la infección en la sangre y neumonía dentro del útero repercute en la morbimortalidad en el recién nacido. No se conoce si el SGB es el principal responsable (3,10,12).

La tipificación molecular de *Streptococcus agalactiae* tiene ventajas sobre las serotipificación tradicional, ya que permite identificar fuentes de infección en la enfermedad neonatal temprana y tardía; también ha sido una importante herramienta en la investigación de brotes intrahospitalarios (13). Además de resultar efectivo en el diagnóstico en mujeres gestantes portadoras.

La PCR facilita la manipulación del ADN y permite avances importantes a nivel científico (14). Es útil en ausencia de métodos alternativos o cuando estos son muy complejos, para mejorar la eficacia diagnóstica comparando con métodos convencionales si se requiere un diagnóstico rápido y precoz del agente etiológico para poder iniciar el tratamiento específico lo antes posible (15).

Fundamentado en lo anterior se precisa comprobar la eficacia de la prueba molecular PCR en tiempo real para la identificación del *Streptococcus agalactiae* en mujeres en la etapa final del embarazo de la ciudad de Santa Marta; lo que conduciría al fortalecimiento de acciones de protección específica en la mujer y preventivas para asegurar la sobrevivencia del recién nacido, pues es uno de los factores asociado a las infecciones neonatales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio evaluativo, que buscó determinar la eficacia de una prueba molecular para diagnosticar el *Streptococcus agalactiae* beta hemolítico del grupo B (SGB). Estudio con enfoque cuantitativo, diseño no experimental, llevado a cabo en una población de 100 mujeres entre 35- 37 semanas de

gestación de Santa Marta asistentes a dos instituciones de salud; selección muestral probabilística correspondiente 80 participantes.

Los métodos utilizados para obtener y analizar la información consistieron en toma de muestras, previa firma del consentimiento informado y explicación minuciosa sobre el procedimiento. Las muestras vagino-rectales se tomaron con un escobillón estéril, y se colocaron en un tubo estéril (14), guardando las normas de bioseguridad. Posteriormente, los hisopados se sembraron en el medio Cromogénico (CHROMagar) orientador de Becton Dickinson, que permitió identificar las colonias sospechosas, después de incubar en aerobiosis a 37 °C durante 24 horas; las colonias sospechosas fueron identificadas fenotípicamente y sometidas a pruebas de sensibilidad mediante el equipo automatizado Phoenix™ 100.

Para el análisis molecular se utilizaron las mismas muestras, luego se identificaron en el ensayo (GBS BD MAX™). Los hisopos se inocularon en caldo Lim. Tras una incubación de 18 horas a 37 °C en aerobiosis al 5 % de CO₂ ambiente, una parte alícuota de 15 ml de caldo de Lim se utilizó para detectar la presencia de SGB. La prueba incorpora la extracción de ADN para aislar el diana de ácido nucleico de la muestra y la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR) para detectar la región pb de la secuencia del gen CFB del cromosoma de *Streptococcus agalactiae*. El sistema (BD MAX) automatiza e integra la extracción de ADN y la concentración, preparación de los reactivos, y la amplificación de ácido nucleico y la detección de la secuencia diana usando tiempo real PCR. Un control de proceso interno también se incorpora en la lisis, extracción, concentración y etapas de amplificación para monitorear la presencia de posibles sustancias inhibidoras (17).

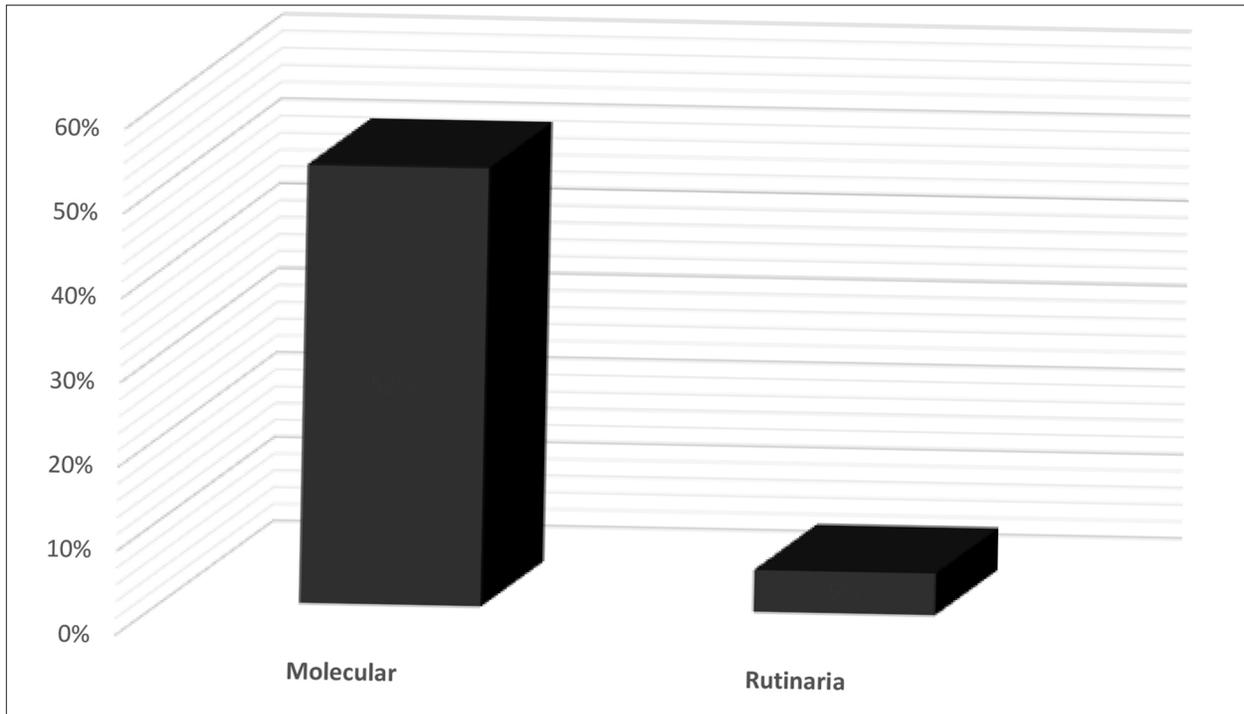
Una vez obtenidos los resultados se calcularon los índices de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, proporción de falsos negativos. El nivel de exactitud de cada prueba se obtuvo utilizando el sistema estadístico IBM SPSS Statistics 25.0.

Se respetaron los criterios éticos emanados de la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia y la Declaración de Helsinki (18,19).

RESULTADOS

La edad promedio de la población estudiada fue de 27 años; con edad mínima de 15 y máxima de 47, mediana de 26,7 y desviación estándar de 7,5. Al aplicar la prueba molecular PCR en tiempo

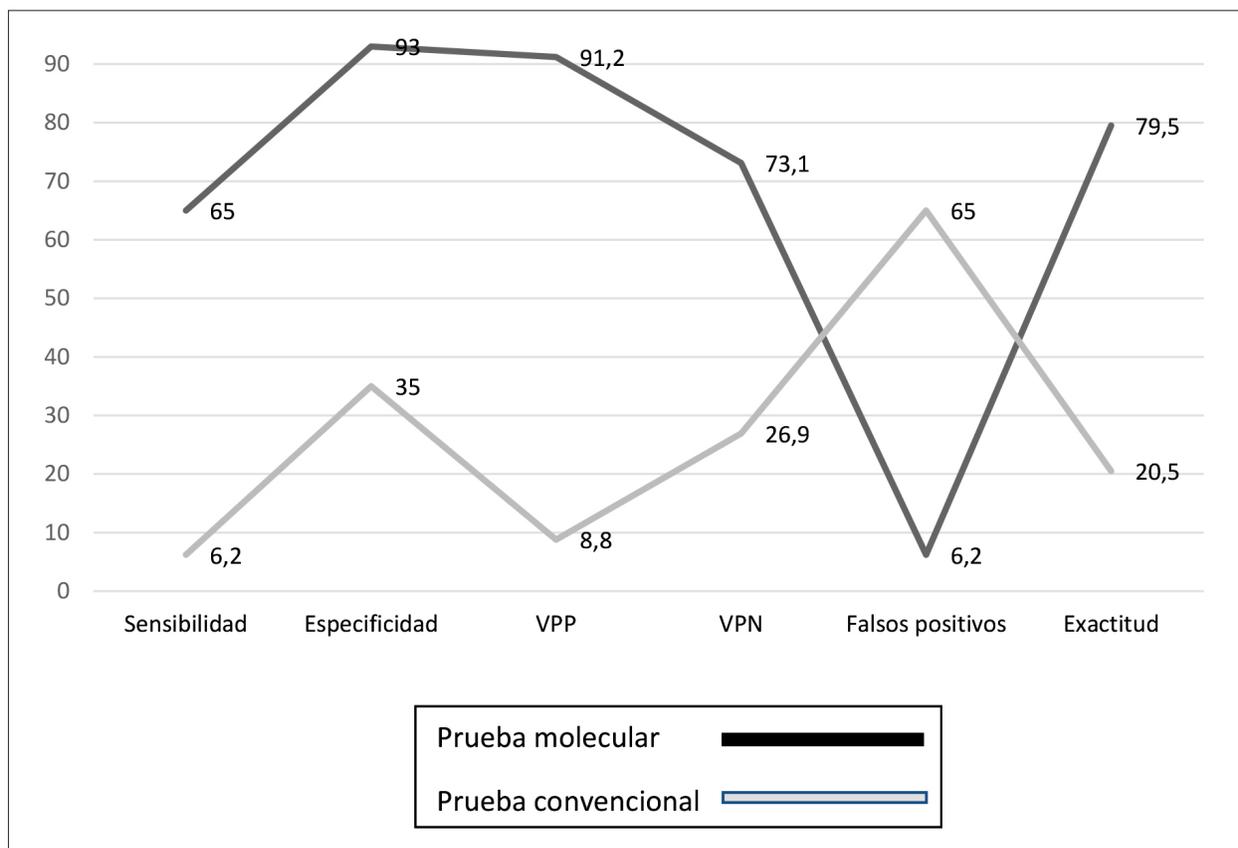
real se detectaron 42 pacientes colonizadas por SGB, lo que corresponde a un nivel de eficacia del 52 %, mientras que, con la prueba rutinaria se identificaron 4 pacientes colonizadas (ver figura 1).



Fuente: Elaboración propia.

Figura 1. Nivel de eficacia prueba molecular vs prueba rutinaria

Por otro lado, los niveles de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de la prueba molecular superan en un amplio rango a los de la prueba de rutina con un nivel de eficacia del 95 %; la prueba molecular demostró una sensibilidad de 65, especificidad de 93, valor predictivo positivo (VPP) 91,2 y valor predictivo negativo (VPN) 73,1; mientras que con la prueba de comparación el nivel de positividad fue del 5 % (4/80), con una sensibilidad de 6,2, especificidad de 3, VPP 8,8 y VPN 26,9; valores que se muestra en la figura 2.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 2. Valores comparativos entre prueba convencional y molecular

DISCUSIÓN

La prueba molecular demostró un alto nivel de positividad en el diagnóstico del *Streptococcus agalactiae* en mujeres gestantes; lo cual comprueba que el método BD MAX™ posee una mayor eficacia; además de ser rápido y confiable permitiendo aumentar la detección de SGB, y posee alta sensibilidad y especificidad. Con este método se obtuvo una tasa de prevalencia de colonización de SGB en mujeres embarazadas mayor que lo reportado hasta ahora en la literatura científica.

El dato que se registra es de vital importancia si se tiene en cuenta que el grupo de madres-hijo posee alta vulnerabilidad y que está incluido como segmento poblacional prioritario dentro de las políticas de salud pública, no solo en Colombia, sino a nivel mundial, del 3.º Objetivo de Desa-

rrollo Sostenible (ODS) (20). Mientras que la prueba de comparación con el método convencional de cultivo para identificación fenotípica utilizando el CHROMagar™ orientador dio un 5 % de positividad de colonización materna para SGB; prueba que normalmente se viene utilizando y que lleva a reconsiderar la necesidad de asumir los protocolos de identificación del microorganismos, si se tiene en cuenta que las tasas de morbilidad y mortalidad que se generan y que están asociadas con infecciones del recién nacido, incluidas la sepsis neonatal, la neumonía, la meningitis, todas infecciones de alta peligrosidad, pueden comprometer la vida de los neonatos(25).

Es importante realizar una revisión de los métodos de tamización, ya que la bacteria sigue produciendo sepsis neonata; fortaleciendo su identificación en el laboratorio y realizar un diagnóstico adecuado que permita al clínico aplicar las conductas terapéuticas y/o profilácticas necesarias.

En nivel de positividad demostrada por la prueba molecular en este estudio se corrobora con lo evidenciado por Schwartz J et al., Miller A et al., Riedlinger J et al., que han demostrado que esta produjo mejores resultados en el diagnóstico del *Streptococcus agalactiae* en mujeres al final del embarazo que la prueba de rutina (21, 22, 23).

Con el método BD MAX™ se aumentó la tasa de detección; lo cual se debe a que la muestra pasa por un caldo de enriquecimiento llamado medio de Lim, que tiene colistina y ácido nalidíxico que inhibe el crecimiento de las bacterias gram negativas y aumenta la densidad bacteriana de SGB presente en la muestra. Además, esta técnica amplifica la secuencia del gen *cfb* de SGB, lo cual permite la detección del ADN presente (23,26). Se evidencia además una alta prevalencia de SGB en nuestro medio; dato preocupante, en especial porque la tamización no se realiza en todas las instituciones, que por lo general utilizan el cultivo como método de identificación. A uno de los recién nacidos de madre colonizada se le diagnóstico enfermedad invasiva por SGB, lo que ratifica la importancia de la búsqueda de este germen a través de métodos diagnósticos más precisos.

CONCLUSIÓN

Estos resultados permitieron identificar mayor eficacia de la prueba molecular, basada en PCR en tiempo real, frente al método rutinario para la identificación del *Streptococcus agalactiae*, ya que esta prueba está influenciada por varios factores como, por ejemplo, el tono azul de las colonias en el medio orientador.

Con esta investigación se evidencia la importancia de realizar la prueba de tamizaje en búsqueda de SGB, y así poder tomar acciones profilácticas, ya que sigue siendo una bacteria que amenaza la vida del recién nacido.

Agradecimientos: los investigadores agradecen a las dos Instituciones que permitieron el desarrollo de la investigación.

Financiación: Comité Nacional de Investigación (CONADI), Universidad Cooperativa de Colombia.

Conflictos de Intereses: Ninguno.

REFERENCIAS

1. Koenig JM, Keenan WJ. Group B Streptococcus and Early-Onset Sepsis in the Era of Maternal Prophylaxis. *Pediatr Clin N Am*. 2009; 56(3): 689–708.
2. Rojas J, Arias M, Pérez P, Otálora E. Prevalencia del Estreptococo B en el tracto genital inferior en embarazadas entre 35 y 37 semanas Hospital de San José. *Repert.med.cir*. 2010; 19(2):141-146.
3. Azario R, Núñez M, Sandoval M, Rios Y, Kuster G, Castellón A et al. Estudio de prevalencia de portación del Estreptococo grupo B en embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación que concurren al Hospital Justo José de Urquiza de la ciudad de Concepción del Uruguay. 2012;2 (2):1-8.
4. Alos J, Andreu A, Arribas L, Cabero L, López J, Melchor J et al. Prevención de la infección perinatal por estreptococo del grupo B. Recomendaciones españolas. Documento consenso. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;31(3):159-172.
5. Cueto M, De la Rosa M. Prevención de la infección neonatal por *Streptococcus agalactiae*. Un tema consolidado. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2003;21(4):171-3 171.
6. Mora M, Pérez M, Moreno E, Mérida F. Infección Neonatal por *Streptococcus agalactiae*. Revisión y actualización sobre la prevención. *Revista médica digital*. 2013; 1(2):1-18.
7. Abarzúa F, Argomedo C, Meissner A, Díaz T, Garrido P, Fariña S et al. Prevalencia de portación vaginal-anal de *Streptococcus agalactiae* en el tercer trimestre de gestación y susceptibilidad a macrólidos y lincosamidas, en mujeres embarazadas de Clínica Alemana Temuco. *Rev. Chilena Infectol*. 2014; 31 (3): 305-308.

8. Crespo M, Henao E, Espitia L, Herrera M. Colonización por *Streptococcus agalactiae* en mujeres gestantes de los centros de atención de la ESE Norte en Cali. *Ciencia & Salud*. 2012; 1(2):23-31.
9. Ministerio de Salud y Protección Social - Colciencias Guía de práctica clínica. Recién nacido: sepsis neonatal temprana. Guía N° 06 Bogotá; 2013. Disponible en: http://gpc.minsalud.gov.co/Documents/Guias-PDF-Recursos/sepsis/GPC_Ptes_Sepsis.pdf
10. Ceballos C, Loaiza N, Romero J, Ospina M, Vásquez E. Caracterización de las gestantes tamizadas para *Streptococcus agalactiae* y su relación con la sepsis neonatal temprana en la clínica El Prado, Medellín. *Infectio*. 2014;18(2):66-71.
11. Barajas N, Báez M. Enfermedad neonatal temprana por *Streptococcus agalactiae* en una unidad de recién nacidos. Factores de riesgo materno-fetales asociados a severidad y mortalidad. *Rev. Cienc. Salud*. 2011; 9 (3): 251-258.
12. Álvarez A, Toraño G, Llanes R. Colonización vaginal/rectal por *Streptococcus agalactiae* en gestantes de Melena del Sur, Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2014;66(3):415-423.
13. Rojo P, Araya A, Martínez M, Hormazábal J, Maldonado A, Fernández J. Caracterización molecular en aislados chilenos de *Streptococcus agalactiae*. *Rev. Med. Chile*. 2008. Disponible en: http://www.researchgate.net/publication/41024055_Caracterizacin_molecular_en_aislados_chilenos_de_Streptococcus_agalactiae
14. Costa J. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. Servicio de Microbiología. Hospital Clínica Provincial. Barcelona. España. 2004. Disponible en: <http://external.elsevier.es/espacioformacion/eimc/temas/m2t12.pdf>
15. Wiener Laboratorios. Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real: Agenda de congresos. Boletín del Servicio Bibliográfico de S.A.I.C. <http://www.wiener-lab.com.ar>. Argentina 2008. Disponible en: <http://www.wiener-lab.com.ar>
16. Duque C, Gómez B, Uribe O, Gutiérrez M, Ruiz E, Leudo G et al Comparación de métodos para la recuperación y determinación de la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres gestantes de Medellín *Infectio*. 2010; 14(2): 105-111.
17. Schwartz J, Robinson B, Makin J, Boyanton L. Evaluation of the BD MAX GBS assay to detect Streptococcus group B in LIM broth –enriched antepartum vaginal–rectal specimens. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2012;73(1): 97–98.

18. Mansini J. Declaración de Helsinki: principios éticos para la investigación médicas sobre sujetos humanos; *Acta bioethica*. 2000; 6 (2): 321-334.
19. Colombia. Ministerio de Salud. Resolución 8430 de 1993. Disponible en: <http://www.dib.unal.edu>
20. Cepal. Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible. Una oportunidad para América Latina y el Caribe. Naciones Unidas; 2016.
21. Schwartz J, Robinson B, Makin J, Boyanton L. Evaluation of the BD MAX GBS assay to detect Streptococcus group B in LIM broth –enriched antepartum vaginal–rectal specimens. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2012;73(1): 97–98.
22. Miller A, Deak E, Humphries R. Comparison of the AmpliVue, BD Max System, and illumigene Molecular Assays for Detection of Group B Streptococcus in Antenatal Screening Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015;53(6): 1938-41.
23. Riedlinger J, Beqaj S, Milish M, Young S, Smith R, Dodd D et al. Multicenter Evaluation of the BD Max GBS Assay for Detection of Group B Streptococci in Prenatal Vaginal and Rectal Screening Swab Specimens from Pregnant Women. *Journal of clinical microbiology*. 2010;48(11): 4239–4241.
24. Sabater S, Moreno R, Campos A, Pardo F. Utilización del medio CHROMagar orientation en la detección de *Streptococcus agalactiae* en gestantes. *Cartas científicas. Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010; 28(8):558–567.
25. Cools PC, Melin P. Group B Streptococcus and perinatal mortality. *Res Microbiol*. 2017; 168 (9-10): 793-801.
26. Hayes K, Cotter L, Barry L, O'Halloran F. Emergence of the L phenotype in Group B Streptococci in the South of Ireland. *Epidemiology and Infection*. 2017; 145 (16): 3535-3542.