



Universidad Nacional de Loja
Facultad de la Salud Humana
Carrera de Laboratorio Clínico

TÍTULO

“Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.”

Tesis previa a la obtención del Título de Licenciada en Laboratorio Clínico

AUTORA:

Marjorie Alexandra Chamba Salinas

DIRECTORA:

Dra. Elsa Cumandá Ramírez Sanmartín, Mg. Sc.

LOJA - ECUADOR

2018

CERTIFICACIÓN

Dra. Elsa Cumandá Ramírez Sanmartín, Mg. Sc.

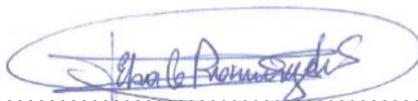
DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo el proceso de la elaboración del trabajo investigativo titulado: **“Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja”**, de autoría de la Srta. Marjorie Alexandra Chamba Salinas, previo a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico, ha sido desarrollada, corregida y orientada bajo mi dirección y en el marco del reglamento del régimen académico de la Universidad Nacional de Loja vigente.

Loja, 04 de Septiembre del 2018

Atentamente,



.....
Dra. Elsa Cumandá Ramírez Sanmartín, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo **MARJORIE ALEXANDRA CHAMBA SALINAS** con CI.1150006482 declaro ser autora del presente trabajo de investigación, y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación del presente trabajo en el Repositorio Institucional de la Biblioteca Virtual.

Autora: Marjorie Alexandra Chamba Salinas

Firma:.....

Cedula: 1150006482

Fecha: Loja, 04 de septiembre del 2018

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, Marjorie Alexandra Chamba Salinas, declaro ser autora de la tesis titulada: **“Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja”** como requisito para optar al grado de Licenciada en Laboratorio Clínico; autorizo al sistema bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad en su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional: Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tengan convenio la Universidad. La Universidad Nacional de Loja no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, al cuarto día del mes de septiembre del dos mil dieciocho, firma la autora.

Firma: .....

Autora: Marjorie Alexandra Chamba Salinas

Cédula: 1150006482

Dirección: Barrio Época, calle Jamaica entre Brasil y Gibraltar

Correo electrónico: mayuyi14_10@hotmail.com

DATOS COMPLEMENTARIOS

Directora de Tesis: Elsa Cumandá Ramírez Sanmartín, Mg. Sc.

Tribunal de grado:

Presidente: Dra. Sandra Elizabeth Freire Cuesta, Mg. Sc.

Vocal: Lic. Iliana Alicia Delgado, Mg. Sc.

Vocal: Lic. María del Cisne Loján González, Mg. Sc.

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mi Dios, mi Santa Madre la Virgen María y mi amado Divino Niño Jesús quienes supieron guiarme por el buen camino, darme fuerza para seguir adelante y no desmayar en todo problema que se me presentaba, enseñándome encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mis padres Francisco Chamba y Sandra Salinas a quienes les debo todo lo que hoy estoy llegando a ser, fueron el pilar fundamental e indispensable, que un hijo necesita en estos momentos tan cruciales de su vida para llegar a esta instancia de mis estudios y por ser el ejemplo de mi más profunda admiración, los amo con toda mi vida.

A mi esposo Roberth Córdova y mi querida hija Zoe Alessandra por su amor y confianza depositada en mí, así mismo son motivo de mi inspiración para seguir creciendo juntos por nuestro hogar, porque me enseñan a levantarme cada mañana para luchar por un futuro mejor poniendo el corazón en todo lo que haga pensando en ustedes.

A mis hermanos Edgar y Luis por sus palabras de aliento y su compañía durante todas mis metas alcanzadas, me hicieron más fuerte con cada vivencia a lo largo de nuestras vidas lo cual me ayudo a formar mi carácter y a defenderme de todo lo malo.

A mis abuelitos y demás familiares que durante toda mi carrera me supieron apoyar y me brindaron su gran sabiduría para poder desempeñarme de la mejor manera en todo momento.

A mis amigas y amigos que durante todo este trayecto de vida universitaria hicieron que estén llenos de felicidad y alegría.

Marjorie Alexandra Chamba Salinas

AGRADECIMIENTO

Al finalizar un trabajo tan arduo y lleno de dificultades como el desarrollo de mi tesis y de esta forma culminar con éxito mis estudios universitarios, es inevitable que me asalte un muy humano egocentrismo que me lleva a concentrar la mayor parte del mérito en el aporte que he hecho. Sin embargo, es inevitable recordar que este aporte hubiese sido imposible sin la participación de personas e instituciones que han facilitado las cosas para que este trabajo llegue a un feliz término, por ello, es para mí un verdadero placer utilizar este espacio para ser justo y consecuente con ellas, expresándoles mis agradecimientos.

Debo agradecer de manera especial y sincera a la Universidad Nacional de Loja y así mismo de muy respetuosa a la Carrera de Laboratorio Clínico y a sus Docentes por haberme acogido en sus aulas, que con su paciencia y conocimiento día a día me formaron como profesional y ser humano.

A la Dra. Elsa Cumandá Ramírez por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas han sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigador; de la misma manera al Hospital Básico 7BI “Loja” por la prestación de sus instalaciones, particularmente de su Laboratorio para el procesamiento de muestras, y a los profesionales que laboran en el mismo por tan agradable acogida.

A los Centros 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja, y sus Jefes de Laboratorio el Lcd. Carlos Juca y la Lcda. Karla Ordoñez respectivamente por abrirme las puertas de tan prestigiosa Institución para el desarrollo de la presente investigación.

Marjorie Alexandra Chamba Salinas

ÍNDICE

CARÁTULA	i
CERTIFICACIÓN	ii
AUTORÍA.....	iii
CARTA DE AUTORIZACIÓN.....	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
ÍNDICE	vii
1. TÍTULO	1
2. RESUMEN.....	2
SUMMARY	3
3. INTRODUCCIÓN	4
4. REVISIÓN DE LA LITERATURA	6
4.1 INTRODUCCIÓN.....	6
4.2 ESTREPTOCOCOS	7
4.2.1 Clasificación de los Estreptococos.....	8
4.2.1.1 Hemólisis	8
4.2.1.2 Sustancia específica de grupo (clasificación de Lancefield)	8
4.2.1.3 Polisacáridos capsulares	9
4.2.1.4 Reacciones bioquímicas	9
4.2.2 Estreptococos de Interés Clínico	10
4.2.2.1 Streptococcus Pyogenes	10
4.2.2.2 Estreptococos de los Grupos C y G	11
4.2.2.3 Estreptococos del Grupo D.....	11
4.2.2.4 Streptococcus Anginosus.....	11
4.2.2.5 Estreptococos Viridans	11
4.2.2.6 Streptococcus agalactiae.....	12
4.3 STREPTOCOCCUS AGALACTIAE	12
4.3.1 Clasificación serológica	13
4.3.1.1 El Ag específico de grupo B o Sustancia C.....	13
4.3.1.2 El Ag polisacárido capsular tipo-específico o Sustancia S.....	13
4.3.1.3 Antígenos proteicos de superficie, fundamentalmente la proteína C	13
4.3.2 Factores de virulencia.....	14

4.3.3	Patogenia	15
4.3.4	Manifestaciones Clínicas.....	15
4.3.4.1	Infecciones por Estreptococos del Grupo B	15
4.3.5	Infecciones causadas por el SGB en el Adulto	16
4.3.5.1	Infección en el adulto no relacionada con la gestación	16
4.3.5.2	Infección maternal relacionada con la gestación, recuperación sobre el parto	17
4.3.5.3	Infección Neonatal.....	17
4.3.5.4	Clínica De la infección neonatal por SGB.....	17
4.4	SECRECIÓN VAGINAL	18
4.4.1	Factores que modifican el ecosistema vaginal	20
4.4.2	Diagnóstico del Laboratorio.....	20
4.4.2.1	Examen de secreción vaginal	20
4.4.2.2	Toma de muestra de secreción vaginal.....	21
4.4.2.3	Fresco de secreción vaginal	21
4.4.2.4	Tinción de Gram de secreción vaginal	21
4.5	MICROBIOTA VAGINAL.....	22
4.5.1	Clasificación de la flora vaginal.....	22
4.5.1.1	Flora permanente	22
4.5.1.2	Flora esporádica o transitoria	23
4.5.1.3	Flora intermitente	23
4.5.1.4	Flora patógena	23
4.6	DIAGNÓSTICO DEL LABORATORIO PARA STREPTOCOCCUS AGALACTIAE.....	23
4.6.1	Cultivo.....	24
4.6.1.1	Medios de cultivo	24
4.6.1.2	Medios selectivos para Estreptococos	25
4.6.1.3	Agar Sangre	26
4.6.1.4	Siembra de microorganismos	27
4.6.1.5	Aspecto de las colonias.....	27
4.6.2	Hemólisis.....	27
4.6.3	Tinción de Gram.....	28
4.6.4	Prueba de catalasa	29
4.6.5	Aglutinación	30

4.6.5.1	Prueba de Aglutinación para tipificación	30
4.6.5.2	Interpretación de Resultados	31
4.6.5.3	Limitaciones	31
5.	MATERIALES Y MÉTODOS	33
5.1	TIPO DE ESTUDIO	33
5.2	ÁREA DE ESTUDIO	33
5.3	UNIVERSO	33
5.4	MUESTRA	33
5.5	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	33
5.6	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	34
5.7	MÉTODOS	34
5.7.1	Fase Pre-analítica.	34
5.7.2	Fase Analítica.	34
5.7.3	Fase Post-Analítica:.....	35
5.8	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	35
6.	RESULTADOS	36
7.	DISCUSIÓN.....	41
8.	CONCLUSIONES	44
9.	RECOMENDACIONES	45
10.	BIBLIOGRAFÍA.....	46
11.	ANEXOS.....	50

1. TÍTULO

Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

2. RESUMEN

El *Streptococcus agalactiae* (SGB) es parte de la microflora vaginal normal y de la porción baja del tubo digestivo en un 5 a 25% de las mujeres, incrementando el riesgo de ruptura prematura de membranas y la transmisión al neonato, causa neumonía y meningitis en neonatos y en algunas ocasiones bacteriemia (Jawetz, 2011). El presente trabajo de investigación se realizó en mujeres embarazadas en su tercer trimestre de gestación que asistieron al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja, teniendo como objetivo determinar la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* (SGB) en dicho grupo a analizar mediante el método de aglutinación en látex; es un estudio descriptivo de corte transversal, en 60 muestras de secreción vaginal; cuyos resultados obtenidos fueron que, el 35% no presentó crecimiento bacteriano en Agar sangre de cordero, en tanto que un 15% presentó crecimiento bacteriano con beta hemólisis, un 32% presentó crecimiento bacteriano con alfa hemólisis y un 18% presentó crecimiento bacteriano sin hemólisis. Según el protocolo planteado para la identificación de *Streptococcus*, en la tinción de Gram el 13% fueron Cocos Gram positivos en cadena; a este 13% se le realizó la prueba de catalasa, las cuales resultaron negativas, confirmando la presencia de 5 muestras que se identificaron como *Streptococcus*. En la tipificación por aglutinación de látex, del 100% de muestras estreptocócicas, el 80% aglutinó para estreptococos del Grupo F y un 20% aglutinó para estreptococos del Grupo G; pero ninguna aglutinó para estreptococos del Grupo B consecuentemente no correspondieron para *Streptococcus agalactiae*, dándonos una prevalencia del 0% a la presencia de esta bacteria en mujeres embarazadas en su tercer trimestre de gestación.

Palabras Clave: Prevalencia, *Streptococcus agalactiae* (SGB), secreción vaginal, mujeres embarazadas.

SUMMARY

Streptococcus agalactiae (GBS) is part of the normal vaginal microflora and the lower portion of the digestive tract by 5 to 25% of women, increasing the risk of premature rupture of membranes and transmission to newborn, causes pneumonia and meningitis neonates and in some cases bacteremia (Jawetz, 2011). The present research work was carried out in pregnant women in their third trimester of pregnancy who attended the Center 1 and 2 of the Ministry of Health-Loja, with the objective of determining the prevalence of *Streptococcus agalactiae* (SGB) in said group to be analyzed by the method of agglutination in latex; is a descriptive, cross-sectional study in 60 vaginal discharge samples; whose results were that, 35% did not present bacterial growth in lamb blood Agar, while 15% presented bacterial growth with beta hemolysis, 32% presented bacterial growth with alpha hemolysis and 18% presented bacterial growth without hemolysis . According to the protocol proposed for the identification of *Streptococcus*, in the Gram stain, 13% were Gram positive cocci in chain; at this 13% the catalase test was performed, which resulted negative, confirming the presence of 5 samples that were identified as *Streptococcus*. In latex agglutination typing, 100% of streptococcal samples, 80% agglutinated for Group F streptococci and 20% agglutinated for Group G streptococci; but none agglutinated for Group B streptococci consequently did not correspond to *Streptococcus agalactiae*, giving a 0% prevalence to the presence of this bacterium in pregnant women in their third trimester of pregnancy.

Keywords: Prevalence, *Streptococcus agalactiae* (SGB), vaginal discharge, pregnant women.

3. INTRODUCCIÓN

El *Streptococcus B-hemolítico* del grupo B, Estreptococo del grupo B o *Streptococcus agalactiae* es parte de la microflora vaginal normal y de la porción baja del tubo digestivo en un 5 a 25% de las mujeres (Jawetz, 2011). Durante el embarazo pueden causar infecciones, las cuales en el primer mes de vida puede presentarse como septicemia fulminante, meningitis o síndrome de dificultad respiratoria. La ampicilina intravenosa administrada a las madres, que son portadoras de *Streptococcus B-hemolítico* del grupo B y que están en trabajo de parto, evita la colonización de sus lactantes y la enfermedad por dicha bacteria (Jawetz, 2011).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que fallecen casi 5.000.000 de recién nacidos al año, y que el 98% ocurre en países en desarrollo, las principales causas de muerte neonatal son las infecciones bacterianas, una causa importante y frecuente de morbilidad y mortalidad en el periodo neonatal; alrededor de un 2% de los fetos se infectan intraútero y hasta un 10% durante el parto o en el primer mes de vida (OMS, 2016). El microorganismo más importante es el *Streptococcus B-hemolítico* del grupo B, según la Organización Panamericana de Salud en 2013 murieron durante su primer mes de vida 2,8 millones de bebés (OPS, 2014). El Ministerio de Salud Pública reporta ruptura prematura de membranas (RPM) en el 10% de las gestaciones, y ruptura prematura de membranas pre término (RPMP) en el 3% asociando un 30%-40% de casos a prematuridad, es causa de infecciones urinarias por *Streptococcus B-hemolítico* del grupo B en su mayoría (MSP, 2015).

Por lo anteriormente expuesto me propuse realizar la siguiente investigación titulada “Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja” cuyo estudio es de tipo descriptivo de

corte transversal; en donde se trabajó 60 muestras de secreción vaginal provenientes de mujeres embarazadas que acudieron al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud de la ciudad de Loja durante el periodo Septiembre 2017 a Febrero 2018.

Para el desarrollo y cumplimiento de la presente investigación se plantearon como objetivos determinar la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en su tercer trimestre de gestación que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja periodo Septiembre 2017-Febrero 2018, determinar el tipo de crecimiento bacteriano en agar sangre, confirmar mediante un protocolo de identificación la presencia de *Streptococcus*, y tipificar el *Streptococcus* mediante prueba rápida, con el método de aglutinación en látex.

Para llevar a cabo el estudio realizado se procedió a la recolección de las muestras de secreción vaginal en mujeres en su tercer trimestre de gestación, las cuales se las procedió a sembrar en Agar sangre de cordero; una vez sembradas se las colocó dentro de una cámara productora de CO₂ la cual proporciona la atmosfera adecuada para el crecimiento de *Streptococcus agalactiae*, y se procedió a incubar por un lapso de 24 horas. Transcurrido el tiempo indicado para la incubación, se determinó el tipo de crecimiento bacteriano y la hemólisis que presentaban los cultivos; de las colonias de dichos cultivos se realizó la tinción de Gram y se observó al microscopio las bacterias presentes en el mismo para poder diferenciar aquellas que se presentaban Gram positivas en forma de cocos dispuestas en cadenas; y así realizarles la prueba de catalasa la cual resultaría negativa para confirmar la presencia de *Streptococcus*.

Al tener identificado el *Streptococcus*, se realizó su respectiva tipificación mediante una prueba rápida por aglutinación en látex, donde se podía obtener seis diferentes serotipos de Estreptococo como el del Grupo A, B, C, D, F o G; y una vez tipificados determinar la prevalencia de *Streptococcus Agalactiae*.

4. REVISIÓN DE LA LITERATURA

4.1 Introducción

El *Streptococcus agalactiae*, causa neumonía y meningitis en neonatos y en algunas ocasiones bacteriemia. Estos también pueden colonizar el intestino y el tracto reproductor femenino, incrementando el riesgo de ruptura prematura de membranas y la transmisión al neonato (Grebo, 2010).

Entre los microorganismos Gram positivos que causan las infecciones genitales más frecuentes tenemos: *Estafilococos saprophyticus*, *Streptococos agalactiae*, *Enterococos* y *Estafilococos aureus* (Zulaica & Poch, 2009).

La actividad sexual, el embarazo, la existencia de una obstrucción urinaria, la disfunción neurógena, el reflujo vesicoureteral y los factores genéticos son circunstancias que favorecen la presentación de las infecciones genitales. La bacteriuria asintomática está asociada con el riesgo de sufrir pielonefritis al finalizar el embarazo y de provocar complicaciones en la madre y para el feto. Por ello, si bien la bacteriuria asintomática en muchas mujeres no embarazadas es transitoria, en mujeres embarazadas se convierte en continua hasta el final de la gestación, de ahí la importancia de su identificación temprana desde el primer control prenatal a través de un examen de orina o secreción junto a un urocultivo (Zulaica & Poch, 2009).

La importancia de detectar oportunamente cualquier tipo de infección durante la gestación radica en la posibilidad de prevenir una serie de complicaciones graves del embarazo que van desde el aborto espontáneo, muerte fetal en el útero, prematuridad, retardo de crecimiento intrauterino, malformaciones fetales, infección congénita en el recién nacido, sepsis neonatal, secuelas post natales de la infección e infección puerperal y sepsis materna, y son

precisamente las infecciones del tracto genitourinario las que pueden ser fácilmente identificadas y tratadas durante la gestación identificando la llamada bacteriuria asintomática y las infecciones vaginales sobre todo las producidas por el Estreptococo del grupo B o *Streptococcus agalactiae* (Zulaica & Poch, 2009).

4.2 Estreptococos

Los estreptococos son bacterias esféricas Gram positivas que de manera característica forman pares o cadenas durante su multiplicación, los miembros de esta cadena con frecuencia presentan un aspecto diplocócico, y en ocasiones se observan formas parecidas a bacilos. Son inmóviles y no forman esporas, miden menos de 2 μm de diámetro y son catalasa negativos (Murray, Rosenthal, & Pfäuer, 2005).

Tienen una amplia distribución en la naturaleza. Algunos son miembros de la microflora normal de los seres humanos, otros están relacionados con enfermedades humanas importantes atribuibles en parte a la infección por estreptococos, y en parte a la sensibilización a ellos. Los estreptococos elaboran diversas sustancias y enzimas extracelulares. Algunas especies elaboran un polisacárido capsular comparable al del neumococo que impide la fagocitosis. La mayor parte de las cepas de los grupos A, B y C producen cápsulas compuestas de ácido hialurónico. La pared de la célula estreptocócica contiene proteínas (antígenos M, R, T), carbohidratos (específicos de grupo) y peptidoglucanos (Jawetz, 2011) (Murray, Rosenthal, & Pfäuer, 2005).

Entre los estreptococos de mayor interés tenemos: *Streptococcus pyogenes*, Estreptococos de los Grupos C y G, Estreptococos del Grupo D, *Streptococcus Anginosus*, *Estreptococos Viridans*, *Streptococcus agalactiae* (Jawetz, 2011).

4.2.1 Clasificación de los Estreptococos

La clasificación de los estreptococos en categorías principales se ha basado en una serie de observaciones durante muchos años: 1) morfología de la colonia y reacciones hemolíticas en agar sangre; 2) especificidad serológica de la sustancia específica de grupo de la pared celular y otros antígenos de la pared celular o capsulares; 3) reacciones bioquímicas y resistencia a factores físicos y químicos, y 4) características ecológicas. Asimismo, se ha utilizado la genética molecular para estudiar a los estreptococos (Jawetz, 2011) (Koneman, 2008).

Las combinaciones de los métodos antes mencionados han permitido clasificar a los estreptococos con fines clínicos y epidemiológicos, pero a medida que ha evolucionado el conocimiento, se han introducido nuevos métodos, lo que ha dado como resultado que se hayan descrito varios sistemas de clasificación (Jawetz, 2011).

4.2.1.1 Hemólisis

Muchos estreptococos pueden producir hemólisis de los eritrocitos in vitro en grados variables. La destrucción completa de los eritrocitos con el aclaramiento de la sangre alrededor del crecimiento bacteriano se denomina hemólisis β . La lisis incompleta de los eritrocitos con reducción de hemoglobina y la formación de pigmento verde se llama hemólisis α . Otros estreptococos son no hemolíticos (a veces denominada hemólisis γ). Se utiliza la clasificación de los patrones hemolíticos principalmente con los estreptococos y no con otras bacterias que producen enfermedad y que suelen producir diversas hemolisinas (Jawetz, 2011).

4.2.1.2 Sustancia específica de grupo (clasificación de Lancefield)

Este hidrato de carbono está contenido en la pared celular de muchos estreptococos y constituye la base del agrupamiento serológico en los grupos de Lancefield A a H y K a U.

La especificidad serológica del hidrato de carbono específico de grupo está determinada por un aminoglúcido. En caso de estreptococos del grupo A, esta es la ramnosa-N-acetilglucosamina; en el caso del grupo B, es un polisacárido de ramnosa-glucosamina; para el grupo C, es la ramnosa-N-acetilgalactosamina; para el grupo D, es el ácido teicoico de glicerol que contiene D-alanina y glucosa; y para el grupo F, es una glucopiranosil-N-acetilgalactosamina (Jawetz, 2011).

Se preparan extractos de antígeno específico de grupo para el agrupamiento de los estreptococos por diversos métodos: extracción del cultivo centrifugado tratado con ácido clorhídrico caliente, ácido nitroso o formamida; mediante lisis enzimática de células estreptocócicas (como pepsina o tripsina); o mediante autoclave de suspensiones de células. Estos extractos contienen el carbohidrato de la sustancia específica de grupo que produce antisueros específicos de reacciones con la precipitina. Esto permite el ordenamiento de muchos estreptococos en los grupos A a H y K a U (Jawetz, 2011) (Koneman, 2008).

Por lo regular se realiza la tipificación solo para los grupos A, B, C, F y G, que causan enfermedad en el ser humano y para los cuales no hay reactivos que permitan la tipificación utilizando aglutinación simple o reacciones de color (Koneman, 2008).

4.2.1.3 Polisacáridos capsulares

La especificidad antigénica de los polisacáridos capsulares se utiliza para clasificar *S. pneumoniae* en más de 90 tipos y para tipificar los estreptococos del grupo B (*S. agalactiae*) (Jawetz, 2011).

4.2.1.4 Reacciones bioquímicas

Las pruebas bioquímicas comprenden reacciones de fermentación de carbohidratos, pruebas para determinar la existencia de enzimas y pruebas de susceptibilidad o resistencia a

determinados compuestos químicos. Las pruebas bioquímicas se utilizan muy a menudo para clasificar estreptococos después del desarrollo de la colonia y de observar las características hemolíticas. Se utilizan las pruebas bioquímicas para especies que por lo general no reaccionan con las preparaciones de anticuerpo frecuentemente utilizadas para las sustancias específicas de grupo, de los grupos A, B, C, F y G. Por ejemplo, los *Streptococcus viridans* son hemolíticos α o no hemolíticos y no reaccionan con los anticuerpos que suelen utilizarse para la clasificación de Lancefield. Para determinar las especies de *Streptococcus viridans* se necesita una serie de pruebas bioquímicas (Jawetz, 2011).

Muchas especies de estreptococos, incluidos *S. pyogenes* (grupo A), *S. agalactiae* (grupo B) y los enterococos (grupo D), se caracterizan por combinaciones de rasgos: características de desarrollo de la colonia, patrones de hemólisis en agar sangre (hemólisis α , hemólisis β o ausencia de hemólisis), composición antigénica de las sustancias de la pared celular específicas de grupo y reacciones bioquímicas. Los tipos de la especie *S. pneumoniae* (neumococos) se clasifican también según la composición antigénica de los polisacáridos capsulares (Jawetz, 2011).

4.2.2 Estreptococos de Interés Clínico

4.2.2.1 *Streptococcus Pyogenes*

También conocidos Estreptococos del grupo A, es el principal microorganismo humano que produce invasión local o sistémica y trastornos inmunitarios posestreptococicos. *Streptococcus pyogenes* suele producir zonas grandes (de 1 cm de diámetro) de hemólisis β alrededor de las colonias mayores de 0.5 mm de diámetro. Son PYR positivos (hidrolisis de l-pirrolidonil-2-naftilamida) y suelen ser susceptibles a la Bacitracina (Koneman, 2008).

4.2.2.2 *Estreptococos de los Grupos C y G*

Estos estreptococos a veces se presentan en la nasofaringe y pueden causar faringitis, sinusitis, bacteriemia o endocarditis. A menudo tienen el aspecto de *Streptococcus pyogenes* del grupo A en medio de agar sangre y son hemolíticos β . Se identifican por las reacciones con antisueros específicos para los grupos C o G. Estos estreptococos del grupo G tienen hemolisinas y pueden tener proteínas M análogas a las de *Streptococcus pyogenes* del grupo A (Jawetz, 2011) (Bailey & Scott, 2009).

4.2.2.3 *Estreptococos del Grupo D*

Los estreptococos del grupo D recientemente han experimentado cambios taxonómicos. Existen ocho especies en este grupo, muchas de las cuales no causan infecciones en el ser humano. El grupo de *Streptococcus bovis* tiene gran importancia para la enfermedad humana y se clasifica además en biotipos (clasificación antigua), que tienen importancia epidemiológica y en tiempos más recientes, en cuatro complejos de DNA (Jawetz, 2011).

4.2.2.4 *Streptococcus Anginosus*

O estreptococos del grupo F. Los microorganismos de este grupo han sido llamados *Streptococcus milleri*, puede ser alfa hemolítico, beta hemolítico o no hemolítico. Crecen en colonias diminutas y puntiformes. Reaccionan con antisueros de los grupos A, C o G y todos los estreptococos hemolíticos β del grupo F (Murray, Rosenthal, & Pfäuer, 2005).

4.2.2.5 *Estreptococos Viridans*

Los estreptococos viridans comprenden *S. mitis*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sanguis* y otros. Suelen ser hemolíticos α pero en ocasiones no son hemolíticos. Su multiplicación no se inhibe por optoquina y las colonias no son solubles en bilis (desoxicolato). Los estreptococos

viridans son los miembros más frecuentes de la microflora normal del aparato respiratorio alto y son importantes para la salud de las mucosas de este sistema. Pueden llegar a la circulación sanguínea como resultado de traumatismo y son una causa principal de endocarditis en las válvulas cardiacas anormales. Algunos estreptococos viridans (p. ej., *S. mutans*) sintetizan grandes polisacáridos como dextranos o levanos a partir de sacarosa y contribuyen en grado importante a la patogenia de la caries dental (Bailey & Scott, 2009).

4.2.2.6 *Streptococcus agalactiae*

Estos son los estreptococos del grupo B. Es característico que sean hemolíticos β y produzcan zonas de hemólisis que solo son un poco mayores que las colonias (1 a 2 mm de diámetro). Los estreptococos de grupo B producen hidrolisis del hipurato de sodio y una respuesta positiva en la llamada prueba de CAMP (test de campo) (Prats, 2007).

4.3 *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus agalactiae (SGB) es la denominación de especie para los estreptococos del grupo B de Lancefield. Es un coco Gram positivo, en cadenas beta hemolítico, catalasa negativo, anaerobio facultativo, que crece bien en medios de cultivo enriquecidos (Cabero, Saldivar, & Cabrillo, 2007).

El SGB produce una proteína extracelular denominada factor CAMP que actúa junto con la beta lisina de *Staphylococcus aureus* produciendo hemólisis sinérgica en agar sangre de carnero. Para identificarla basta con la observación morfológica de las colonias y producción de pigmento en medio Granada; junto con tinción de Gram, catalasa y detección de antígeno específico (Cabero, Saldivar, & Cabrillo, 2007).

4.3.1 Clasificación serológica

Las cepas de SGB se pueden subdividir en función de la presencia de tres marcadores serológicos:

4.3.1.1 El Ag específico de grupo B o Sustancia C

Posee una estructura ramificada y compleja y está situado sobre la pared de la bacteria. Los anticuerpos frente al antígeno de grupo no son capaces de proteger frente a la infección. El antígeno del grupo B está compuesto por un polímero de ramnosa-glucosamina fijada a la capa del peptidoglucano (Murray, Rosenthal, & Pfäuer, 2005).

4.3.1.2 El Ag polisacárido capsular tipo-específico o Sustancia S

Los antígenos polisacáridos capsulares se designan Ia, Ib, II, III, IV, V, VII, VIII. Los estreptococos del grupo B son siempre capsulados y pertenecen a uno de nueve serotipos capsulares reconocidos, los cuales están compuestos por glucosa, galactosa, N-acetilglucosamina y ácido N-acetil-neuramínico; la especificidad del serotipo está determinada por las distintas disposiciones de estos cuatro componentes en cada uno de los tipos capsulares. Los anticuerpos frente a este antígeno son capaces de proteger de la infección causada por cepas de su tipo (Koneman, 2008).

4.3.1.3 Antígenos proteicos de superficie, fundamentalmente la proteína C

El antígeno proteico es designado solo con la letra c, que existe en dos formas: c-alfa y c-beta. Por lo tanto la designación de los serotipos para las cepas que contienen antígeno c se expresan como Ib/c y II/c. Este antígeno se encuentra en todas las cepas Ia y Ib, en el 60% de las cepas tipo II, y raramente en las cepas de tipo III. Por lo tanto, las designaciones de serotipo para las cepas que poseen antígeno C se expresan como Ia/c, Ib/c y II/c. Existen

otros antígenos proteicos como las proteínas R y Rib, pero carecen de función conocida (Koneman, 2008) (Murray, Rosenthal, & Pfaüer, 2005).

4.3.2 Factores de virulencia

El antígeno polisacárido capsular es un factor clave de virulencia, y por ello el desarrollo de vacunas capaces de provocar respuesta inmune frente a este antígeno tipo específico se considera un enfoque prometedor para la prevención de la infección por SGB. También se ha sugerido que las proteínas capsulares (C, Rib, etc.) contribuyen a la virulencia (Cabero, Saldivar, & Cabrillo, 2007).

De hecho de que las cepas capsuladas son más virulentas por el papel que desempeña el ácido siálico (forma parte del polisacárido capsular) que actúa como factor de virulencia (Cabero, Saldivar, & Cabrillo, 2007).

La estructura de la hemolisina del SGB es desconocida pero recientemente se ha demostrado que es otro factor de virulencia importante. En la patogénesis de la infección neonatal actúa como citotoxina, lesionando directamente las células y/o activando la respuesta inflamatoria. También induce la producción de óxido nítrico a nivel de los macrófagos y se asocia con un incremento de mortalidad en modelos animales de infección. Aunque poco frecuentes y menos virulentas (Ortiz & Jaramillo, 2014).

El pigmento de SGB también podría jugar un papel como factor de virulencia, las cepas pigmentadas son siempre hemolíticas y la producción de pigmento no se ha observado cuando el SGB está produciendo infección o crece en cultivos celulares, el papel como factor de virulencia atribuido al pigmento probablemente sea debido a la hemolisina (Tortora, Funke, & Case, 2007).

4.3.3 Patogenia

En la fisiopatología de la infección invasiva por SGB están implicados varios factores bacterianos, el principal de ellos constituye el polisacárido capsular de tipo específico. Las cepas asociadas con infección invasiva elaboran más polisacárido capsular que las cepas colonizadoras. Todos los polisacáridos capsulares son polímeros de alto peso molecular y además de estar constituidos por azúcares todos contienen una cadena corta lateral terminada en ácido-acetilneuramínico (Koneman, 2008).

Estudios realizados en las cepas tipo III de SGB sugieren que este serotipo posee mayor virulencia, la misma que estaría asociada con el ácido siálico el cual es un componente estructural de la cápsula tipo III. Su presencia en la superficie del microorganismo inhibe la activación de la vía alternativa del complemento y evita la fagocitosis. La carencia de anticuerpos contra estos antígenos específicos de tipo es un factor crucial para el desarrollo de enfermedades producidas por SGB (Koneman, 2008).

4.3.4 Manifestaciones Clínicas

El *Streptococcus agalactiae* es uniformemente sensible a las penicilinas y estas son el tratamiento de elección una vez establecido el diagnóstico etiológico. La prevención de la colonización del feto puede lograrse mediante la profilaxis con ampicilina durante el parto a las madres portadoras. No obstante la solución en un futuro próximo puede radicar en la inmunización activa con preparaciones de polisacáridos capsulares purificados (Grebo, 2010).

4.3.4.1 Infecciones por Estreptococos del Grupo B

La infección estreptocócica del grupo B durante el primer mes de vida puede presentarse como septicemia fulminante, meningitis o síndrome de dificultad respiratoria. La ampicilina

intravenosa administrada a las madres, que son portadoras de estreptococos del grupo B y que están en trabajo de parto, evita la colonización de sus lactantes y la enfermedad por estreptococos del grupo B (Bailey & Scott, 2009).

Las infecciones por estreptococos del grupo B están aumentando en personas adultas no embarazadas. Dos poblaciones que están aumentando, es decir, los ancianos y los hospedadores inmunodeprimidos, son los que tienen más riesgo de enfermedad invasiva. Los factores predisponentes comprenden diabetes mellitus, cáncer, edad avanzada, cirrosis hepática, tratamiento con corticoesteroides, infección por VIH y otros estados de inmunodeficiencia. La bacteriemia, las infecciones de la piel y los tejidos blandos, las infecciones respiratorias y las infecciones genitourinarias en orden de frecuencia descendente constituyen las principales manifestaciones clínicas (Jawetz, 2011).

4.3.5 Infecciones causadas por el SGB en el Adulto

4.3.5.1 Infección en el adulto no relacionada con la gestación

Aunque considerado habitualmente como causa de infección en RN y gestantes, el SGB es un patógeno capaz de causar infección grave en otros grupos de adultos. Las más corrientes son infecciones de piel y tejidos blandos e infecciones óseas que aparecen frecuentemente como complicaciones en diabetes, cirrosis, úlceras de decúbito, neoplasias y otros estados de inmunocompromiso. En el adulto no es excepcional la bacteriemia por SGB sin foco demostrable que frecuentemente es polimicrobiana. El SGB es causa también de endocarditis, síndrome que fue mucho más frecuentemente en la era preantibiótica, siendo en los años 1930 y 1940 la endocarditis por SGB frecuente en la embarazada, aunque hoy la endocarditis por SGB, en general, no aparece relacionada con el embarazo. El SGB es también un patógeno urinario de interés, causando infección urinaria en pacientes cateterizados y en ancianos (Bailey & Scott, 2009).

4.3.5.2 Infección maternal relacionada con la gestación, recuperación sobre el parto

El SGB causa infecciones en la gestante, como endometritis, amnionitis, infección de la herida del parto, etc. Y estimándose una incidencia de estas infecciones de dos por cada 1000 embarazos (Bailey & Scott, 2009).

La colonización materna se ha relacionado con rotura prematura de membranas y parto prematuro aunque otros estudios no han confirmado esta asociación. Se ha señalado que la infección urinaria por SGB durante la gestión puede estar relacionada con aborto, parto prematuro y rotura prematura de membranas (Bailey & Scott, 2009).

El SGB puede estar presente en la leche materna y a través de ella infectar al Rn causando infección neonatal tardía y mastitis en el lactante, pero no se ha descrito la producción de mastitis o abscesos de mama en la puérpera (Bailey & Scott, 2009).

4.3.5.3 Infección Neonatal

El SGB es causa importante de infección neonatal en todos los países desarrollados. El que la madre sea portadora es el principal factor de riesgo y sin medidas preventivas, un 1-2% de los recién nacidos de madres colonizadas desarrollan infección precoz. La presencia de SGB en orina en la gestante refleja alto grado de colonización y por ello es factor de riesgo para el desarrollo de la infección por SGB (Cabero, Saldivar, & Cabrillo, 2007).

4.3.5.4 Clínica De la infección neonatal por SGB

Suele ser inespecífica y en ocasiones casi inaparente al inicio del cuadro, lo que exige al médico que valora a un recién nacido enfermo a que sea en ausencia de una etiología clara del proceso, sospeche he la posibilidad de que el mismo sea secundario a una infección.

Según el momento en el que se inicia la clínica durante el periodo neonatal, diferenciamos varios tipos de infecciones (Mandell, Bennett, & Dolin, 2006).

Septicemia de inicio muy precoz: Corresponde a las formas más graves de infección perinatal; de inicio casi siempre intrauterino. Se suelen presentar con signos de enfermedad evidentes desde la primera hora de vida que evoluciona hacia la muerte en pocas horas (Mandell, Bennett, & Dolin, 2006).

Septicemia de inicio precoz: Se presenta durante los tres primeros días de vida. La sintomatología predominante es la insuficiencia respiratoria grave, que se acompaña en ocasiones de shock que puede prolongarse por más de una semana. La mortalidad de este grupo oscila alrededor del 10 % de los casos (Cabero, Saldivar, & Cabrillo, 2007).

Infecciones de inicio tardío: Se inician después de seis días de nacimiento y hasta los tres meses de edad. El SGB pudo haberse adquirido al pasar por el canal de parto, por transmisión a través de la leche materna o por transmisión nosocomial. La afectación meníngea es casi constante y la tasa de mortalidad es más baja que la sepsis de inicio precoz (Cabero, Saldivar, & Cabrillo, 2007).

4.4 Secreción Vaginal

El *Streptococcus Agalactiae* es una bacteria que se encuentra normalmente en el intestino delgado de los humanos. Comúnmente, no va más allá porque es destruido por la bilis. Pero en algunos individuos, esta destrucción no funciona y sigue su camino en el tracto intestinal hacia el intestino grueso y el recto. Por eso, en muchas ocasiones, por cercanía, acaba encontrándose también en el tracto urinario y/o vaginal, en el caso de las mujeres (Tamáriz, Obregón, & Jara, 2014).

Esta bacteria, no causa trastorno alguno si se mantiene en un cierto número, pero si hay una descompensación en el fino equilibrio de nuestra flora bacteriana, puede causar una infección. Y esto es grave en el caso de mujeres embarazadas por el riesgo de poder contagiar a sus hijos a través del canal del parto. La colonización de los recién nacidos se produce durante el alumbramiento, a partir del tracto genital materno colonizado o en el útero por vía ascendente, siendo la tasa de transmisión vertical del 50%. Existen diversos factores obstétricos asociados con un mayor riesgo de infección del recién nacido, como prematuridad (< 37 semanas), rotura prolongada de las membranas (>18 horas), existencia de fiebre intraparto (> 38°C), haber tenido hijos con infección por *Streptococcus agalactiae* y la presencia de bacteriuria durante el embarazo causada por este microorganismo (Tamáriz, Obregón, & Jara, 2014).

La secreción vaginal es un líquido viscoso, de color blanquecino que es excretado de la vagina. Esta se origina en el cérvix y en la mucosa vaginal (Mandell, Bennett, & Dolin, 2006).

Las secreciones vaginales normales constituyen una biomasa importante desde el punto de vista fisiológico. Las células vaginales contienen glucógeno y se descaman continuamente hacia la luz vaginal. Durante la autólisis el glucógeno se despolimeriza en glucosa que sirve de fuente de energía para los lactobacilos (Cruz, Peraza, & Caballero, 2014).

Las especies predominantes son *Lactobacillus crispatus* y *Lactobacillus jensenii*. Los lactobacilos metabolizan la glucosa en ácido láctico que proporciona a su vagina su pH normal de 3,5 a 4,6 (Prats, 2007).

Aunque en las mujeres sanas la vagina no sea estéril y de ella puedan aislarse numerosas especies de bacterias, los lactobacilos suelen ser los microorganismos más abundantes de la flora vaginal, ya que representan más del 95% de las bacterias presentes en la vagina normal.

De hecho las células predominantes en las secreciones vaginales normales son las células epiteliales vaginales junto a los lactobacilos (Prats, 2007).

Además del ácido láctico, los lactobacilos también pueden producir peróxido de hidrogeno, cuyo efecto bactericida se potencia considerablemente si se combina con las concentraciones fisiológicas de mieloperoxidasa y cloruro (Mandell, Bennett, & Dolin, 2006).

4.4.1 Factores que modifican el ecosistema vaginal

La pérdida de la flora vaginal normal, dominada por los lactobacilos, aumenta las probabilidades de sufrir una infección exógena tras exponerse a patógenos de transmisión sexual, así como el riesgo de sufrir una infección endógena asociada a un embarazo o a una cirugía ginecológica (Mandell, Bennett, & Dolin, 2006).

4.4.2 Diagnóstico del Laboratorio

4.4.2.1 Examen de secreción vaginal

El examen de secreción vaginal se lo realiza en el laboratorio clínico y sirve para la detección de infecciones o complicaciones en la etapa del embarazo, también para pruebas forenses; y permite explicar trastornos hallados con más frecuencia (Strasinger & Schaub, 2008).

Además de evaluar las secreciones vaginales para descubrir infecciones, se realizan pruebas en las secreciones vaginales para detectar proteína alfa microglobulina placentaria para diagnosticar la rotura de membranas fetales, o la enzima fibronectina fetal para evaluar el riesgo de parto prematuro (Strasinger & Schaub, 2008).

4.4.2.2 Toma de muestra de secreción vaginal

Siempre que sea posible, se utilizará un espéculo para la adecuada visualización y recogida de la muestra. El espéculo se debe introducir en la vagina sin lubricante (puede emplearse agua templada en su lugar), en el caso de no disponer de espéculo se recomienda la ayuda de dos hisopos estériles los cuales se introducirán en la vagina del paciente y serán de ayuda para conseguir una mejor visualización del cuello del útero. Se utilizan de dos a tres hisopos para la toma de muestra que se la obtendrá de la parte posterior del cuello del útero; se utilizarán estos hisopos para la medición de pH, preparación en Fresco, KOH y tinción de Gram (Mandell, Bennett, & Dolin, 2006).

4.4.2.3 Fresco de secreción vaginal

El examen en fresco de muestras vaginales es una técnica de diagnóstico rápida y de sencilla realización que permite identificar células epiteliales escamosas, leucocitos, hematíes, células clave, levaduras y parásitos (Strasinger & Schaub, 2008).

Su técnica consiste en introducir uno de los hisopos que contenga la muestra de secreción vaginal en un tubo con suero fisiológico, luego sobre una placa portaobjetos se colocará una gota de esta suspensión y se la cubrirá con un cubreobjetos para luego proceder a realizar su lectura con ayuda de un microscopio óptico (Zulaica & Poch, 2009).

4.4.2.4 Tinción de Gram de secreción vaginal

Es la principal tinción que se realiza en la secreción vaginal con el fin de obtener la identificación adecuada de las bacterias presentes en la misma ya sea los Lactobacilos u otro tipo de bacteria u hongos que pueda causar infecciones o molestias en el paciente (Zulaica & Poch, 2009).

4.5 Microbiota vaginal

La microbiota vaginal normal está compuesta por bacterias aerobias y anaerobias. La principal bacteria que corresponde el 95% de la flora normal de la vagina es *Lactobacillus acidophylus* o también llamado bacilo de Doderlein y 5% corresponde *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus spp.*, *Gardnerella Vaginalis* y microorganismo anaerobios como *Bacteroides*, *Prevotella bivius*. Además pueden encontrarse entre un 20-50% de las ocasiones y entre el 50- 70% de las mujeres sexualmente activas *Micoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* (Koneman, 2008).

Estos compuestos juegan un papel importante estabilizando la flora vaginal. Durante el embarazo la concentración de *Lactobacillus* aumenta diez veces, donde los organismos anaerobios son menos frecuentes y los organismos aeróbicos son relativamente constantes. A medida que avanza el embarazo el aumento de los niveles de *Lactobacillus*, hace que el ecosistema vaginal inhiba el crecimiento de muchos microorganismos patógenos o potencialmente patógenos como la *E. Coli* y otros agentes patógenos y oportunistas (Koneman, 2008).

4.5.1 Clasificación de la flora vaginal

4.5.1.1 Flora permanente

Es la integrada por aquellos microorganismos endógenos que se recuperan durante todo el ciclo, en más de 90% de mujeres como es el caso de *Lactobacillus spp* y *Corynebacterium spp* (Mandell, Bennett, & Dolin, 2006).

4.5.1.2 Flora esporádica o transitoria

Es la integrada por aquellos microorganismos endógenos que solo aparecen en un momento del ciclo como: *Ureaplasma urealyticum* que se recupera en 17% como flora permanente y en el 48% como flora esporádica (Zulaica & Poch, 2009).

4.5.1.3 Flora intermitente

Es la integrada por aquellos microorganismos endógenos que se recuperan cíclicamente, entre ellos: *Gardnerella vaginalis* y *Streptococcus grupo B* (Mandell, Bennett, & Dolin, 2006)

4.5.1.4 Flora patógena

Es la integrada por aquellos microorganismos exógenos que producen una patología determinada y que no forman parte de la flora habitual, constituyen este grupo: *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* y *Treponema pallidum*, y por aquellos microorganismos endógenos que, por algún tipo de desequilibrio, pueden desencadenar solos o asociados alguna patología como son *Cándida albicas*, *Gardnerella vaginalis*, *anaerobios* y *Mycoplasma spp* (Mandell, Bennett, & Dolin, 2006).

4.6 Diagnóstico del Laboratorio para *Streptococcus agalactiae*

Para el género *Staphylococcus* la identificación comienza con el estudio de la morfología macroscópica y microscópica a partir de un cultivo puro, los requerimientos nutricionales del género *Streptococcus* es exigente y por lo tanto debe ser cultivado en medios ricos que le aporten los nutrientes necesarios, por ejemplo agar sangre ovina al 5% (Tortora, Funke, & Case, 2007).

Dentro de las pruebas bioquímicas para la identificación, la primera, luego de determinar que se trata de cocos Gram positivos, es la prueba de la catalasa (Tortora, Funke, & Case, 2007).

Luego de determinar que se trata de cocos Gram positivos, catalasa negativos, debemos observar el efecto que producen las colonias de la cepa en estudio sobre placas de agar sangre ovina al 5% (tipo de hemólisis). Así podemos clasificar este grupo de gérmenes en:

- beta-hemolíticos: aquellos que producen una hemólisis total de los glóbulos rojos, observándose como un halo transparente alrededor de las colonias.
- alfa-hemolíticos: aquellos que producen hemólisis parcial, la cual se observa como un halo con tonalidad verdosa alrededor de las colonias.
- gamma-hemolíticos: aquellos que no producen hemólisis sobre el agar sangre (MdClinica, 2013).

4.6.1 Cultivo

4.6.1.1 Medios de cultivo

Un material nutritivo preparado para el crecimiento de microorganismos en un laboratorio se denomina medio de cultivo. Algunas bacterias pueden crecer bien en casi cualquier medio de cultivo; otras requieren medios especiales y otras no pueden crecer en ninguno de los medios inertes existentes hasta ahora. Los microbios que se introducen en un medio de cultivo para que comiencen a crecer y se denominan inóculo. Los microbios que crecen y se multiplican en un medio de cultivo se denomina cultivo (Tortora, Funke, & Case, 2007).

4.6.1.2 Medios selectivos para *Streptococos*

Los estreptococos crecen en los medios de cultivo de laboratorio estándares como agar sangre de carnero al 5% y agar chocolate. No crecen en agar de Mac Conkey pero si en medio de cultivo para Gram positivos como agar Columbia con colistina y agar alcohol feniletílico (Bailey & Scott, 2009).

Para detectar la colonización genital para estreptococos del grupo B durante el embarazo se usa agar sangre de carnero al 5% que permita el crecimiento de *S. agalactiae* (Bailey & Scott, 2009).

A continuación se mencionan los medios de cultivo que ayudan a identificar y aislar Estreptococos:

Agar BHI (Infusión cerebro-corazón): La infusión cerebro-corazón es una fórmula muy rica que puede emplearse, ya sea como caldo o medio sólido, con sangre adicional o sin esta, para el crecimiento de una gran variedad de microorganismos. Los caldos BHI se emplea con frecuencia como medio para hemocultivo y como medio base para muchas pruebas metabólicas, en especial para la identificación de estreptococos (MdClinica, 2013).

Agar Chocolate: Usa la misma base que el agar sangre, actualmente la hemoglobina y otros nutrientes presentes en los lisados de los glóbulos rojos, como hemina y coenzima NAD, se añaden como suplemento a un agar base muy rico. Aísla Gram positivos anaerobios facultativos como el Estreptococo (MdClinica, 2013).

Agar CNA (colistina, ácido nalidíxico): Agar base de Columbia adicionado de colistina y ácido nalidíxico que suprimen por completo el crecimiento de enterobacterias y de *Pseudomonas*, pero permiten el desarrollo de estreptococos, estafilococos, enterococos y

levaduras. Se puede añadir 5% de sangre desfibrinada que proporciona más nutrientes y la capacidad de detectar reacciones hemolíticas (MdClinica, 2013).

Agar PEA (alcohol feniletílico, "phenylethanol"): Agregando alcohol feniletílico a una base con peptona, extracto de carne y agar se obtiene un medio que inhibe el desarrollo de las bacterias Gram negativas. La adición de un 5% de sangre de oveja proporciona nutrientes para estreptococos y estafilococos. Este medio también se emplea para el cultivo de microorganismos anaerobios que no son inhibidos por el alcohol (MdClinica, 2013).

Agar Selectivo para estreptococos: Es una modificación del agar sangre de oveja, que contiene cristal violeta, trimetoprim-sulfametoxazol y colistina en concentraciones adecuadas para inhibir a la mayoría de los estreptococos excepto *Streptococcus pyogenes* y *S. agalactiae*. La beta hemólisis se observa fácilmente. El medio es efectivo para la siembra primaria de hisopos de garganta para la detección de estreptococos del grupo A (MdClinica, 2013).

Caldo Todd-Hewitt con sangre y antibióticos: Se utiliza para la selección y enriquecimiento de *Streptococcus agalactiae* en muestras de tracto genital femenino. El caldo Todd-Hewitt, que se emplea para el enriquecimiento de estreptococos, se suplementa con ácido nalidíxico y gentamicina o colistina para una mayor selectividad (MdClinica, 2013).

4.6.1.3 Agar Sangre

Es un medio con una fórmula rica en nutrientes que contiene tres fuentes de peptona y sangre de carnero desfibrilada al 5%. Este medio nutritivo también se puede utilizar para diferenciar colonias bacterianas sobre la base de las reacciones hemolíticas que producen. CNA siglas de los antibióticos colistina (C) y ácidos nalidíxico (NA) que se agregan al medio para inhibir el crecimiento de la mayoría de los microorganismos Gram negativos, pero sin

impedir el desarrollo de bacterias Gram positivas, por lo que confieren propiedades selectivas a este medio (Bailey & Scott, 2009).

4.6.1.4 Siembra de microorganismos

En la mayoría de los laboratorios las placas de agar sangre deben sembrarse por punción con el asa en el agar varias veces. Las colonias pueden crecer entonces hasta la profundidad del agar y producir hemolisinas sensibles al oxígeno. En los medios de cultivo sólidos la mayoría de los microorganismos crecerán dentro de las 48 horas posteriores a la siembra (Bailey & Scott, 2009).

4.6.1.5 Aspecto de las colonias

Los estreptococos beta hemolíticos pueden tener un olor característico a manteca. En las bacterias *S. agalactiae* sus colonias son más grandes que las colonias de los estreptococos del grupo A; traslúcidas a opacas; planas, de superficie brillante con un halo estrecho de beta hemólisis, algunas cepas no son hemolíticas (Bailey & Scott, 2009).

4.6.2 Hemólisis

Muchos microorganismos son capaces de crecer en agar sangre y cuando lo hacen responden de diferente manera según realicen o no la lisis de los glóbulos rojos (hemólisis) producida por la acción de una enzima llamada hemolisina (Tamáriz, Obregón, & Jara, 2014).

Podemos diferenciar tres tipos de hemólisis:

- Hemólisis alfa: es una hemólisis parcial y la zona de crecimiento aparece rodeada de un halo de color verdoso.

- Hemólisis beta: en este caso la hemólisis es total y el halo que rodea a las colonias es totalmente transparente.
- Hemólisis gamma (no hemólisis): el microorganismo en cuestión no es capaz de realizar la hemólisis y por tanto no existe halo alrededor de la colonia (Tamáriz, Obregón, & Jara, 2014).

Se utiliza la clasificación de los patrones hemolíticos principalmente con los estreptococos y no con otras bacterias que producen enfermedad y que suelen producir diversas hemolisinas. Las hemolisinas presentes son la estreptolisina O es una proteína que tiene actividad hemolítica en el estado reducido pero rápidamente es inactivada en presencia de oxígeno. Es responsable fundamental de la beta hemólisis que se observa alrededor de las colonias de *Streptococcus* de una parte de la hemólisis que se observa cuando el crecimiento se presenta en cortes profundos dentro del medio en las placas de agar sangre. Se combina cuantitativamente con la antiestreptolisina O (ASO), un anticuerpo que aparece en el ser humano después de la infección por cualquier estreptococo que produzca estreptolisina O. La estreptolisina S es la enzima que produce las zonas hemolíticas alrededor de las colonias estreptocócicas que crecen en la superficie de las placas de agar sangre. Es elaborada en presencia de suero, de ahí el nombre de estreptolisina S. No es antigénica pero puede ser inhibida por un inhibidor inespecífico que a menudo está presente en los sueros de seres humanos y animales y es independiente de la experiencia previa con estreptococos (Koneman, 2008).

4.6.3 Tinción de Gram

Una característica taxonómica importante de las bacterias es su respuesta a la tinción de Gram. Las propiedades de tinción de Gram parecen ser fundamentales, porque la reacción de Gram se correlaciona con muchas otras propiedades morfológicas en formas con relación

filogenética. Un microorganismo que en potencia es positivo para la tinción de Gram puede parecerlo sólo bajo condiciones ambientales particulares y en un cultivo joven (Koneman, 2008).

Los procedimientos de tinción de Gram inician con la aplicación de un colorante básico, violeta de genciana. A continuación, se aplica una solución de yodo; todas las bacterias se tiñen de color azul en este punto del procedimiento. Luego la célula se trata con alcohol; las células Gram positivas que conservan el complejo de violeta de genciana-yodo adquieren un color azul y las células Gram negativas se decoloran por completo con la adición de alcohol. Como último paso se aplica otro colorante (puede ser rojo de safranina) de forma que las células Gram negativas decoloradas adquieran un color contrastante; las células Gram positivas adquieren un color violáceo. La base de la reacción diferencial a la tinción de Gram es la estructura de la pared celular (Jawetz, 2011).

4.6.4 Prueba de catalasa

La enzima catalasa cataliza la liberación de agua y oxígeno a partir de peróxido de hidrógeno su presencia se determina por análisis directo de un cultivo bacteriano. La producción rápida de burbujas (efervescencia) cuando el cultivo bacteriano se mezcla con una solución de peróxido de hidrógeno se interpreta como una prueba positiva (es decir, presencia de catalasa). Si no presenta efervescencia o esta es débil la prueba se interpreta como negativa. Si el inóculo bacteriano se contamina accidentalmente con eritrocitos cuando se recolecta de una placa de agar sangre de carnero puede haber una producción débil de burbujas, pero esto no debe interpretarse como una prueba positiva (Bailey & Scott, 2009).

Dado que la prueba de catalasa es clave para la identificación de muchos microorganismos Gram positivos, la interpretación debe ser cuidadosa. Por ejemplo, los estafilococos son

positivos para catalasa mientras que los estreptococos y enterococos son negativos (Bailey & Scott, 2009).

4.6.5 Aglutinación

La interacción de un antígeno particulado con su anticuerpo correspondiente se visualiza por la formación de “aglutinados”. Cuando la partícula aglutinada es el antígeno mismo se habla de una reacción de aglutinación directa o activa. Si el antígeno es soluble y se absorbe física y químicamente sobre una partícula, entonces se habla de una reacción de aglutinación indirecta o pasiva (Rojas, 2008).

4.6.5.1 Prueba de Aglutinación para tipificación

Prueba de aglutinación de látex para la identificación de *Streptococcus* grupos A, B, C, D, F y G. Se demostró que la mayoría de los estreptococos patógenos poseen antígenos específicos de naturaleza hidrogenocarbonatada que permite su clasificación en grupos. Estos antígenos estreptocócicos de grupo, previamente conjugados con anticuerpos pueden extraerse de las células y ponerse de manifiesto con partículas de látex previamente conjugadas con anticuerpos grupo específicos. Las partículas de látex aglutinarán en presencia de antígeno homólogo, pero permanecerán en suspensión tenue en ausencia del mismo (THERMO, 2016).

El kit de agrupación de estreptococos Oxoid basado en una aglutinación de partículas de látex, utiliza un procedimiento nuevo de extracción enzimática que acorta considerablemente el tiempo requerido para extraer el antígeno incrementando el rendimiento particularmente en lo que se refiere a antígeno de estreptococo Grupo D (THERMO, 2016).

4.6.5.2 Interpretación de Resultados

La prueba se considera positiva cuando aparece la aglutinación con uno de los grupos o cuando la reacción de aglutinación es más fuerte que en los otros cinco. La prueba se considera negativa cuando no aparece aglutinación. En algunas ocasiones pueden observarse ligeras trazas de material granular en una reacción negativa deben ser ignorados (THERMO, 2016).

4.6.5.3 Limitaciones

Se pueden dar resultados falsos negativos si se utiliza una cantidad inadecuada de cultivo para su extracción. La mayor parte de todos los estreptococos beta-hemolíticos aislados de infecciones humanas poseen antígenos hidrocarbonados específicos que pueden ser puestos de manifiesto por reacciones serológicas (THERMO, 2016).

Los intentos de aplicar este procedimiento a los estreptococos no beta hemolíticos han sido infructuosos excepto para los grupos B, D y N. Los estreptococos pertenecientes al grupo N, no se han encontrado hasta el momento en infecciones humanas. Se ha señalado que el reactivo de látex para el Grupo D puede fallar en la reacción con algunas razas de *S. bovis*, estas razas requerirán otros estudios para su identificación (THERMO, 2016).

Cuando se lleva a cabo una identificación serológica de estreptococos deben realizarse algunas observaciones previas tales como.

- (i) Hemólisis; a,c (ii) Morfología celular; b,c (iii) Pureza y cantidad del crecimiento; d.
- a) Aparte *Streptococcus pneumoniae*. Este estreptococo es α -hemolítico, soluble en bilis y sensible a optoquina. Otros estreptococos no son solubles en bilis y son optoquina-resistentes.

- b) Los Aerococos son no β -hemolíticos, crecen en caldo 6,5% de NaCl y dan reacciones variables con la bilis-esculina. Pueden diferenciarse de los enterococos por su disposición en tétradas o individuos aislados, mientras los enterococos se disponen como diplococos o en cadenas cortas.
- c) Los estafilococos o *Listeria monocytogenes* son β -hemolíticos y se diferencian de los estreptococos por su morfología celular y la reacción de la catalasa.
- d) Subcultivar si el organismo sospechoso presenta un crecimiento insuficiente o es confluyente con otro tipo de colonias.
- e) Se han encontrado algunas razas que parecen tener los antígenos D y G (THERMO, 2016).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Tipo de Estudio

El enfoque del estudio fue de tipo descriptivo de corte transversal pues se realizó para examinar la presencia o ausencia de una enfermedad u otro resultado de interés, en relación con la presencia o ausencia de una exposición, ambos hechos ocurriendo en un tiempo determinado y en una población definida.

5.2 Área de Estudio

El área de estudio serán los Centros 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja, área urbana del Centro 1 ubicado en la Av. Universitaria cerca a la puerta de la Ciudad y el área urbana del Centro 2 ubicado en la calle Andrés Bello frente a la Funeraria Jaramillo; estos son centros de salud con atención a todo público en general de forma gratuita y financiada por el gobierno nacional del Ecuador.

5.3 Universo

Mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asistieron al centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja periodo Septiembre 2017 - Febrero 2018.

5.4 Muestra

El grupo de estudio estuvo conformado por 60 mujeres embarazadas en su tercer trimestre de gestación.

5.5 Criterios de inclusión

- Mujeres embarazadas que se encuentren en el tercer trimestre de Gestación.

5.6 Criterios de exclusión

- Mujeres embarazadas que se hayan realizado aseo previo a la toma de muestra.
- Mujeres embarazadas con sangrado abundante.

5.7 Métodos

Para alcanzar los objetivos planteados en este proyecto se realizarán las siguientes técnicas, protocolos y procedimientos descritos a continuación.

5.7.1 Fase Pre-analítica.

- Se elaboró oficio que será dirigido al director del distrito 11D01 de salud-Loja para solicitar el respectivo permiso para realizar el muestreo en los centros 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja. Anexo N°1
- Se elaboró un consentimiento informado, el mismo que será entregado a cada una de las mujeres embarazadas dispuestas a participar en la investigación, el cual, al ser firmado servirá de respaldo para realizar el análisis respectivo. Anexo N°2
- Se realizó la recolección de la muestra aplicando el protocolo para exudado vaginal. Anexo N°3

5.7.2 Fase Analítica.

- Se realizó el control de calidad de los medios de Agar sangre de cordero (se adjunta factura de la compra de los medios). Anexo 4
- Se realizó la siembra del exudado vaginal en medio de Agar sangre de cordero mediante protocolo. Anexo 5
- Se realizó el control de calidad al protocolo de identificación, tanto a la Tinción de Gram y la prueba de catalasa. Anexo 6

- Se aplicó el protocolo de identificación que consiste en la tinción de Gram y prueba de catalasa. Anexo N°7
- Se realizó el control de calidad al Kit para determinación de grupo de estreptococos. Anexo 8
- Se identificó *Streptococcus agalactiae* mediante la utilización de prueba rápida por aglutinación en látex. Anexo N°9

5.7.3 Fase Post-Analítica:

- Se elaboró un registro de los datos con el fin de tener un respaldo de la información obtenida de los análisis clínicos. Anexo N°10
- Reporte y entrega de resultados obtenidos. Anexo N°11
- Evidencia fotográfica. Anexo N°12

5.8 Análisis e interpretación de resultados

Se realizó la interpretación de los resultados a partir de tablas y gráficos estadísticos realizados en el programa informático Microsoft Excel 2010.

6. RESULTADOS

Determinar la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en su tercer trimestre de gestación que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja periodo Septiembre 2017 - Febrero 2018

Análisis:

De acuerdo con los análisis realizados para conocer la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* encontramos que de 60 mujeres analizadas, ninguna presentó dicha bacteria. Estos resultados se dan debido a que en la mujer embarazada se realiza un control general de infecciones relacionadas con su aparato genito urinario desde el primer trimestre de gestación reduciendo la posibilidad de la aparición de *Streptococcus agalactiae* en su último trimestre de gestación.

Tabla N°1

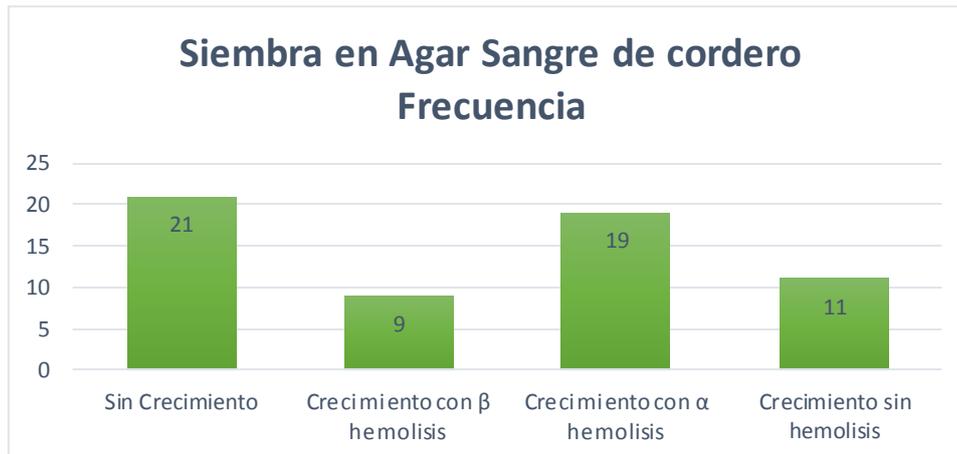
Determinar el tipo de crecimiento bacteriano en agar sangre.

Siembra en Agar Sangre de Cordero

	Frecuencia	Porcentaje
Sin crecimiento	21	35%
Crecimiento con β hemólisis	9	15%
Crecimiento con α hemólisis	19	32%
Crecimiento sin hemólisis	11	18%
TOTAL	60	100%

Fuente: Registro de resultados de la investigación
Elaborado por: Marjorie Chamba

Grafico N°1



Fuente: Registro de resultados de la investigación
Elaborado por: Marjorie Chamba

Análisis:

De las 60 muestras analizadas, 21 equivalente al 35% de las muestras, no se observó crecimiento bacteriano; mientras que 39 si presentaron crecimiento bacteriano en Agar sangre de cordero al 5 % con una incubación que se realizó en un lapso de 24 a 48 horas en presencia de CO₂. De las 39 muestras que presentaron crecimiento bacteriano; 9 muestras equivalentes al 15% presentaron crecimiento bacteriano con β hemólisis; 19 muestras equivalentes al 32% presentaron crecimiento bacteriano con α hemólisis; mientras que 11 muestras equivalentes al 18% presentaron crecimiento bacteriano sin hemólisis o también llamada γ hemólisis

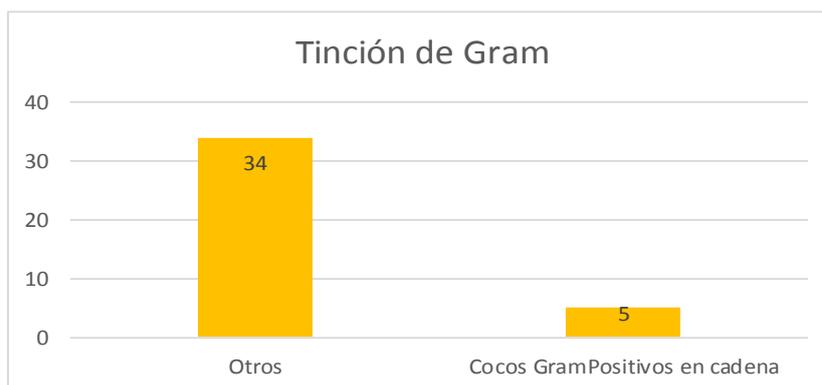
Tabla N°2

Confirmar mediante un protocolo de identificación la presencia de Streptococcus; mediante Tinción de Gram procedente del cultivo y Prueba de catalasa.

Tinción de Gram

	Frecuencia	Porcentaje
Otros	34	87%
Cocos GramPositivos	5	13%
TOTAL	39	100%

Fuente: Registro de resultados de la investigación
Elaborado por: Marjorie Chamba

Grafico N°3

Fuente: Registro de resultados de la investigación
Elaborado por: Marjorie Chamba

Análisis

De las 39 muestras con crecimiento equivalentes al 100%, se realizó la tinción de Gram de las colonias presentes en el medio; donde 5 (13%) de las muestras eran Cocos Gram positivos dispuestos en cadena, mientras que 34 (87%) presentaron otros tipos de bacterias que no son de nuestro interés.

Tabla N°3

Prueba de la Catalasa

	Frecuencia	Porcentaje
Positiva	0	0%
Negativa	5	100%
TOTAL	5	100%

Fuente: Registro de resultados de la investigación

Elaborado por: Marjorie Chamba

Grafico N°3

Fuente: Registro de resultados de la investigación

Elaborado por: Marjorie Chamba

Análisis

Como parte final del protocolo para la identificación de *Streptococcus*, se procedió a realizar la prueba de catalasa a las 5 muestras que eran cocos Gram positivos en cadena equivalentes al 100%; donde las 5 muestras dieron un resultado negativo; esto último favorable para el resultado confirmatorio de la presencia de *Streptococcus*.

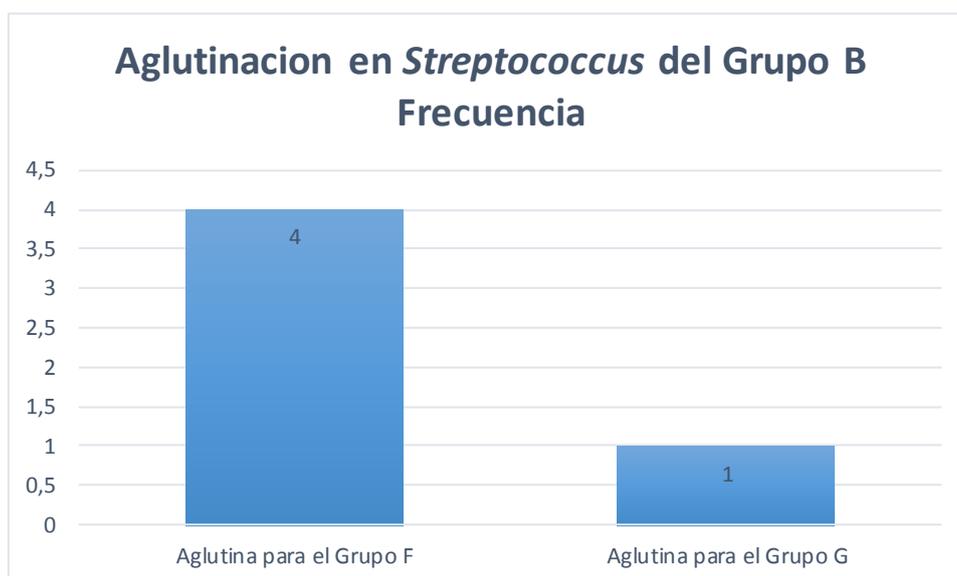
Tabla N°4

Tipificar el Streptococcus mediante prueba rápida.

	Frecuencia	Porcentaje
Aglutina para el Grupo F	4	80%
Aglutina para el Grupo G	1	20%
TOTAL	5	100%

Fuente: Registro de resultados de la investigación
Elaborado por: Marjorie Chamba

Grafico N°4



Fuente: Registro de resultados de la investigación
Elaborado por: Marjorie Chamba

Análisis

De las 5 muestras que presentan *Streptococcus* equivalentes al 100%; al realizar la tipificación de *Streptococcus agalactiae* por la aglutinación en látex, se obtuvieron que 4 de las muestras equivalentes al 80% aglutinaron para Estreptococo del grupo F; mientras que 1 muestras equivalente al 20% aglutinó para Estreptococo del grupo G, pero ninguna aglutinó para Estreptococo del grupo A, B, C o D; siendo la del Grupo B la que representaba nuestro interés principal.

7. DISCUSIÓN

El *Streptococcus agalactiae*, causa neumonía y meningitis en neonatos y en algunas ocasiones bacteriemia. Pueden colonizar el tracto reproductor femenino, incrementando el riesgo de ruptura prematura de membranas y la transmisión al neonato (Grebo, 2010). Esta bacteria es una de las principales causas de muerte neonatal importante y frecuente de morbilidad y mortalidad, alrededor de un 2% de los fetos se infectan intraútero y hasta un 10% durante el parto o en el primer mes de vida (OMS, 2016).

El presente estudio se realizó en un total de 60 muestras tomadas de mujeres embarazadas en su tercer trimestre de gestación que asistieron al Centro de Salud N° 1 y 2 del ministerio de salud de la ciudad de Loja, las cuales cumplieron los criterios de inclusión planteados; obteniendo los 60 resultados negativos para la presencia de *Streptococcus agalactiae* correspondientes a un 0%.

La prevalencia variará por los diferentes lugares de Latinoamérica dependiendo del tipo de estudio, del medio de cultivo utilizado y del tipo de población tamizada, con o sin factores de riesgo en el mismo.

Los datos obtenidos en esta investigación se asemejan a la prevalencia de otros estudios realizados con temas semejante, como es el caso de un estudio en la ciudad de Cali (Colombia) sobre la Colonización por *Streptococcus agalactiae* en mujeres gestantes de los centros de atención de la ESE (Empresa Social de Estado) Norte en Cali; de un total de 102 mujeres gestantes que acudieron a los programas de Ginecoobstetricia de la Empresa Social del Estado ESE-Norte en Cali. sometidas a estudio, cuatro de ellas equivalente al 3.9% estaban colonizadas con *Streptococcus agalactiae* (tres con densidad moderada y una con alta) (Ortiz & Jaramillo, 2014). Al compararlo con nuestro estudio, se puede observar que la prevalencia es superior a nuestra investigación, esto puede ser debido a que las mujeres

embarazadas colonizadas con SGB fueron pacientes con alto riesgo obstétrico (más de 35 años y más de un embarazo).

Otro estudio realizado en México sobre prevalencia de colonización de *Streptococcus agalactiae* en mujeres con embarazo a término; se muestreo a 433 mujeres embarazadas en donde dos pacientes tuvieron resultado positivo para *Streptococcus agalactiae* en la muestra vaginal equivalente al 0.46% (Gutiérrez, Leyva, & Ortiz, 2015). Contrastando con nuestro estudio los resultados obtenidos fueron similares al nuestro. Cabe anotar que la población de embarazadas fue escogida por conveniencia de manera secuencial, y sin selección por factor de riesgo como: diferencias en la población, microambiente vaginal, tipo de tamizaje, sistema de detección y factores inmunológicos.

En nuestro país se han realizado investigaciones semejantes respecto al tema de estudio sobre la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas, en la Universidad Técnica de Ambato fue tema de estudio la Identificación de Estreptococo beta hemolítico del grupo B y su relación con infecciones vaginales en embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación que asisten al control prenatal al centro de salud Tipo A Pujilí; donde se analizó a 90 mujeres embarazadas de las cuales 4 presentaron colonización equivalentes al 4,4% (Guisha, 2015). Al relacionarlo con nuestro estudio se puede evidenciar que hay un 4,4% de esta bacteria, lo que nos hace pensar que las mujeres en estudio no tuvieron un control frecuente de su embarazo, debido a sus controles lo hacen con sus parteras de la localidad.

En la Universidad de Cuenca se llevó a cabo la investigación sobre la prevalencia de infección genital en mujeres embarazadas que asisten al control prenatal del subcentro de salud Carlos Elizalde; de 200 mujeres embarazadas presentó una prevalencia del 2,2% equivalente a una sola mujer embarazada en el tercer trimestre de gestación portadora de

Streptococcus agalactiae (Rodríguez & Salgado, 2014). Existe una ligera semejanza entre este estudio y el nuestro debido al bajo porcentaje de detección de esta bacteria.

Se puede apreciar claramente que la prevalencia de mujeres embarazadas en nuestro país portadoras de SGB no es alto, particularmente en este trabajo investigativo; en las mujeres embarazadas que asistieron a los Centros de salud 1 y 2 de la ciudad de Loja se obtuvo una prevalencia del 0%, pudiendo deberse al control de infecciones genitourinarias y el número de controles prenatales que se han realizado desde el inicio del embarazo.

8. CONCLUSIONES

- Se determinó que la prevalencia de *Streptococcus Agalactiae* en mujeres en su tercer trimestre de gestación que asistieron al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja es de un 0%.
- Se pudo observar en el Agar sangre de cordero que el 35% no presentó crecimiento bacteriano, mientras que un 15% presentó crecimiento bacteriano con presencia de β hemólisis, un 32% presentó crecimiento bacteriano con presencia de α hemólisis, y un 18% presentó crecimiento bacteriano sin presencia de hemólisis.
- Se confirmó mediante la aplicación de protocolos la presencia de *Streptococcus*; pues con la tinción de Gram se observó que el 13% presentaban Cocos Gram positivos en cadena, de este 13% al realizarles la prueba de la catalasa; todas resultaron negativas.
- Se realizó la tipificación por aglutinación en látex del 100% de las muestras que presentaban *Streptococcus*, donde un 80% aglutinó para estreptococo del Grupo F, un 20% aglutinó para estreptococo del Grupo G, y ninguna aglutinó para estreptococo del Grupo B, consecuentemente no obtuvimos *Streptococcus agalactiae*.

9. RECOMENDACIONES

- Es necesario seguir realizando controles prenatales completos por parte del Centro de Salud N° 1 y 2 del Ministerio de Salud de Loja para evitar contraer infecciones bacterianas en las mujeres embarazadas por su salud y la de su hijo.
- Es vital la elaboración de guías que cuenten con control de la calidad para el manejo de muestras de secreción vaginal y su estudio microbiológico; para apoyo del personal de laboratorio.
- Sería muy adecuado implementar el cultivo para detección de *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas en su tercer trimestre de gestación como un examen de rutina para descartar posibles infecciones que pongan en riesgo la vida de la mujer y su hijo.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Aranguren, Y. (2011). *Pruebas Bioquímicas Básicas Utilizadas en el Laboratorio de Microbiología*. Obtenido de SlideShare: <https://es.slideshare.net/yudyaranguren/mmi-pruebas-bioquimicas-bsicas-utilizadas-en-el-laboratorio-de-microbiologa-yudyaranguren-i-2011>
- Bailey, & Scott. (2009). *Diagnostico Microbiológico*. Argentina: Editorial Medica Panamericana .
- Cabero, R. L., Saldivar, R. D., & Cabrillo, R. E. (2007). *Obstetricia y Medicina Materno-Fetal*. Madrid: Panamericana.
- Cruz, A. A., Peraza, G. T., & Caballero, R. L. (Septiembre de 2014). *Colonización vaginal/rectal por Streptococcus agalactiae en gestantes de Melena del Sur, Cuba*. Obtenido de Revista SciELO: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0375-07602014000300009&script=sci_arttext&tlng=en
- Grebo. (2010). *Manual de Actualización en Resistencia Bacteriana y Normas CLSI M100 - S20 2010*. Obtenido de Secretaria Distrital de Salud: http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/SiteCollectionDocuments/Manual_Resistencia_SDS_2010.pdf
- Guisha, D. (2015). *“IDENTIFICACIÓN DE ESTREPTOCOCO BETA HEMOLÍTICO DEL GRUPO B Y SU RELACIÓN CON INFECCIONES VAGINALES EN EMBARAZADAS DE 35 A 37 SEMANAS DE GESTACIÓN QUE ASISTEN AL CONTROL PRENATAL AL CENTRO DE SALUD TIPO A PUJILÍ”*. Ambato.

- Gutiérrez, G., Leyva, G., & Ortiz, J. (2015). Prevalencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* en mujeres con embarazo a término. *Medigraphic*, 648-652.
- Herrera, M. L., & Campos, M. (2013). Control de la Calidad para un Laboratorio de Microbiología. *SciELO*, 9-11.
- Jawetz, M. Y. (2011). *MICROBIOLOGÍA MÉDICA*. México, D.F.: McGRAW-HILL INTERAMERICANA.
- Koneman. (2008). *Diagnóstico Microbiológico*. Argentina: Editorial Medica Panamericana.
- Mandell, G. L., Bennett, J., & Dolin, R. (2006). *Enfermedades Infecciosas, Principios y Práctica*. España: Elsevier.
- MdClinica. (2013). *Medios de Cultivo*. Obtenido de Microbiología Clínica:
<http://asignatura.us.es/mbclinica/docs/recursos/12/medios-de-cultivo.pdf>
- MSP. (2015). *Ruptura prematura de membranas pretermino*. Obtenido de Ministerio de Salud Publica del Ecuador: http://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2014/05/MSP_RUPTURA-PREMATURA_21122015.pdf
- Murray, P. R., Rosenthal, K., & Pfaüer, M. (2005). *Microbiología Medica*. Madrid: Elsevier.
- OMS. (Septiembre de 2016). *Reducción de la mortalidad en la niñez*. Obtenido de Organizacion Mundial de la Salud:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs178/es/>
- OPS. (16 de Septiembre de 2014). *Datos recientes revelan un rápido descenso sin precedentes en las tasas de mortalidad infantil*. Obtenido de Organización Panamericana de Salud:
http://www2.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=9956%3

A2014-new-data-show-child-mortality-rates-falling-faster-than-ever&catid=1443%3Aweb-bulletins&Itemid=135&lang=es

Ortiz ME, F. N. (Diciembre de 2013). *Frecuencia de colonización por Streptococo grupo B en embarazadas de 35 a 37 semanas en el Hospital Materno-Infantil San Pablo.*

Obtenido de Revista SciELO: <http://scielo.iics.una.py/pdf/iics/v11n2/v11n2a05.pdf>

Ortiz, M., & Jaramillo, H. (2014). *Colonización por Streptococcus agalactiae en mujeres gestantes de los centros de atención de la ESE Norte en Cali.* Cali.

Prats, G. (2007). *Microbiología Clínica.* España: Editorial Medica Panamericana.

Rodríguez, R., & Salgado, F. (2014). “*PREVALENCIA DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO EN MUJERES EMBARAZADAS QUE ASISTEN AL CONTROL PRENATAL DEL SUBCENTRO DE SALUD CARLOS ELIZALDE*”. Cuenca.

Rojas, E. O. (2008). *Inmunología de memoria.* España: Editorial Medica Panamericana.

Selva, R., Ruiz, M., Losa, E., Martínez, L., & González, J. R. (Febrero de 2014). *Meningitis puerperal por estreptococo del grupo B.* Obtenido de Medicina Clinica-Clinicalkey: <https://www.clinicalkey.es/#!/content/playContent/1-s2.0-S0025775313007689?returnurl=http:%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0025775313007689%3Fshowall%3Dtrue&referrer=https:%2F%2Fscholar.google.com.ec%2F>

Strasinger, & Schaub, D. L. (2008). *Análisis de Orina y de los Líquidos Corporales.* Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana.

Tamáriz, J., Obregón, M., & Jara, J. (2014). Colonización vaginal y anorectal por Streptococcus Agalactiae en gestantes de los Hospitales Nacionales Cayetano Heredia y Arzobispo Loayza. *SciELO*, 2.

THERMO, S. (2016). *Kit de Aglutinación de Streptococcus*. Thermo Fisher Scientific Inc.

Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2007). *Introducción a la Microbiología*. España: Editorial Medica Panamericana. S. A.

Zulaica, C. V., & Poch, F. M. (2009). Infecciones de Vías Urinarias en Adultos. *Guia Clínica Colombia*.

11. ANEXOS



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 1

PROYECTO: Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

OFICIO AL DIRECTOR DEL DISTRITO 11D01 DE SALUD-LOJA



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

Ofic. Nro. 0301 - CLC-ASH-UNL
Loja, 31 de octubre de 2017

Señor Ingeniero
Marco Antonio González
DIRECTOR DEL DISTRITO 11D01 LOJA-SALUD
Ciudad.-

DIRECCION DISTRITAL DE SALUD N° 11D01
GESTION DOCUMENTAL
RECEPCION DE DOCUMENTOS
FECHA: 06/11/2017
HORA: 11:10
Ricardo Jaramilla
RESPONSABLE

De mi consideración:

Con un cordial saludo me dirijo a usted, con la finalidad de solicitarle comedidamente se autorice a la Srta. Marjorie Alexandra Chamba Salinas, estudiante del VII Ciclo de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, realizar toma de muestras de secreción vaginal, a mujeres embarazadas para la obtención de datos estadísticos, que son de vital importancia para el desarrollo del Trabajo de Investigación, cuyo tema es "PREVALENCIA DE ESTREPTOCOCCUS AGALACTIAE EN MUJERES EN EL TERCER TRIMESTRE DE GESTACIÓN, QUE ASISTEN AL CENTRO DE SALUD 1 Y 2 DEL MINISTERIO DE SALUD - LOJA", siendo los objetivos los siguientes:

OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de *Streptococcus Agalactiae* en mujeres en su tercer trimestre de gestación que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud - Loja.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el tipo de crecimiento bacteriano en agar sangre
- Confirmar mediante un protocolo de identificación la presencia de *Streptococcus*
- Tipificar el *Streptococcus* con el Kit de Strep Latex Test.

Así mismo me permito indicar que se entregarán los resultados obtenidos al final del mismo al Departamento de Provisión y Calidad de Servicios de Salud perteneciente al Distrito 11D01.

Por la favorable atención a lo peticionado le expreso mi sincero agradecimiento.

Atentamente,

Dra. Natalia Morales Palacio
Dra. Natalia Morales Palacio Ph.D
DIRECTORA DE LA CARRERA
DE LABORATORIO CLÍNICO



c.c./Archivo



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 2

PROYECTO: Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

N°

Loja,

De mis consideraciones:

Yo, Marjorie Alexandra Chamba Salinas; estudiante del VII ciclo de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja, me dirijo a Ud. Con el propósito de solicitarle la autorización necesaria para la toma de muestra de secreción vaginal, el análisis de dicha muestra servirá para el desarrollo del proyecto investigativo titulado: “Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.”

Los resultados obtenidos serán entregados a sus respectivos responsables.

Esperando su aceptación y colaboración en pro de su salud y la de su hijo en camino, le anticipo mi agradecimiento.

NOMBRE:

f.....

CI.....



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 3

PROYECTO: Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

PROTOCOLO PARA EXUDADO VAGINAL

Previo a la recolección de la muestra se debe realizar las debidas explicaciones a la paciente dándole seguridad y confianza para proceder con la técnica.

El procedimiento es el siguiente:

- Explicar el procedimiento a la mujer, resolviendo las posibles dudas que pudiera tener.
- Pedir a la paciente que pase a la sala de exploración y se descubra genitales, cubriéndose con un paño o bata.
- Indicar a la paciente que se sienta en la camilla ponga los pies en los estribos y proceda a tumbarse (posición ginecológica).
- Preparar material de exudado vaginal, verificando fechas de caducidad: Guantes e Hisopo de plástico sencillo para aerobios-anaerobios compuesto por escobillón/hisopo y tubo con medio de transporte.
- Proceder a lavarnos las manos y colocarnos los guantes.
- Abrir el tubo con medio de transporte y coger los guantes.
- Indicar a la mujer que vamos a proceder a tomar la muestra.

- Separar los labios vulvares con la mano no dominante y con la mano dominante introducir en vagina el escobillón frotando suavemente las paredes de ésta para recoger la muestra.
- Retirar el escobillón de la vagina e introducirlo dentro del tubo con medio de transporte.
- Indicar a la mujer que puede proceder a incorporarse y a vestirse.
- Identificar tubo de muestra con etiqueta del paciente, nº de muestra y fecha de recogida (Prats, 2007).



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 4

PROYECTO: Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

CONTROL DE CALIDAD DE LOS MEDIOS DE AGAR SANGRE DE CORDERO

Conceptualización: Los medios de cultivo comerciales no requieren pruebas de control de calidad adicional, puesto que su calidad ya ha sido certificada por el fabricante.

Se adjunta factura de la compra de medios de Cultivo de Agar Sangre de Cordero.

IMPORTADOR - DISTRIBUIDOR
Proveedor Integral Para Laboratorio
www.medibac.com

GUAYAGUIL:
Victor Emilio Estrada 916 e Ilanes (Urdesa), PBX: (04) 460 2999 - 461 2069
Av. Las Aguas 1111 y Laureles (Urdesa), PBX: (04) 288 1414

QUITO:
Av. República del Salvador N34-399 e Irlanda, Edificio Rosanfa (La Carolina)
Planta Baja. Of. 4 y 6, PBX: (02) 226 1478

PORTOVIEJO:
Ciudadela Los Mangos. Calle Elias Cedeño, entre Bolívar Ávila y Manuel
Andrade, PBX: (05) 256 5182

CLIENTE: SALINAS PACHO JORGE DARIO

FECHA: 31 de octubre de 2017 11:34 a.m.

DIRECCIÓN: CIUDADELA EPOCA

FAVOR PREPARAR Y DESPACHAR TODO CUANDO LLEGUE EL STREPTOCOCCAL

ORDEN DE PEDIDO

Nro: 19660

Cantidad	Código Prod.	Descripción	Precio. Unit	Total
35,00	AGAR7040-S	CAJA AGAR SANGRE CORDERO BIPETRI	1,85	64,7
2,00	PORBORESM	PORTA OBJETO NOR. 7101 [50] (GOLDLAB)	1,25	2,5
1,00	C-22X100	CUBRE OBJETO 22X22MM [100] (EUROPA)	1,34	1,3
1,00	TE12X75	TUBO DE ENSAYO 12X75ML [250] (EUROPA)	13,39	13,3
2,00	HCAR100	HISOPOS MADERA 6" X 100UNI CARICIA	2,00	4,0
1,00	DR0585A-S	STREPTOCOCCAL GROUPING KIT 50	510,96	510,9

SON: SEISCIENTOS SESENTA Y OCHO 57/100 DÓLARES AMERICANOS

SubTotal: 596,94

Base 0%: 0,00

Base 12%: 596,94

IVA: 71,63

Total a Pagar: 668,57

MEDIBAC INC S.A
SOFIA MOREIRA
31/10/2017 12:17:25



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 5

PROYECTO: Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

PROTOCOLO PARA SIEMBRA EN AGAR SANGRE DE CORDERO

a) Técnica de Siembra en Agar Sangre de Cordero

Conceptualización: Medio de cultivo utilizado para el aislamiento de numerosos microorganismos. Al ser suplementado con sangre ovina, permitió el crecimiento de microorganismos nutricionalmente exigentes y la clara visualización de reacciones de hemólisis.

Fundamento: La infusión de músculo de corazón y la peptona, otorgan al medio un alto valor nutritivo, que permite el crecimiento de una gran variedad de microorganismos, aún de aquellos nutricionalmente exigentes. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar es el agente solidificante.

El agregado de 5-10 % de sangre estéril, promueve el desarrollo de bacterias exigentes en sus requerimientos nutricionales y la adecuada observación de las reacciones de hemólisis.

Objetivo: Realizar correctamente la siembra de la muestra de secreción vaginal.

Equipo-materiales

- Barrera de bioseguridad (guantes, toca, mandil, mascarilla)
- Un mechero de bunsen
- 1 tubo que contiene la muestra

- 1 caja Petri con medio de cultivo solido (Agar sangre de cordero).
- Una estufa

Procedimiento

Siembra por estría

- 1) Descargar sobre la superficie del medio formando estrías. Esto puede realizarse de varias formas:
 - Se coloca el inculo, luego se continua con las estrías. Cuando se quiere obtener colonias muy separadas se puede utilizar dos o tres placas de Petri, para lo cual se repite la operación sin tomar con el asa nuevo material.
 - Se dividirá la placa de Petri en cuatro cuadrantes; una vez depositado el material en el primero, siguiendo el sentido de las agujas del reloj, se hizo una estría luego en el segundo, tercero y cuarto cuadrante sin cargar nuevamente el asa; en el último cuadrante apareció las colonias aisladas.
 - Extender sobre una pequeña zona de la placa, próxima al borde, se esteriliza el asa y se traza otra estría a partir del depósito y así sucesivamente.
- 2) Incubar a 37 °C por 24 horas.

Observaciones

Se observará las características de las colonias y las reacciones de hemólisis:

Hemólisis alfa: lisis parcial de los glóbulos rojos. Se observó un halo de color verdoso alrededor de la colonia en estudio. Es debido a la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina (compuesto de color verdoso) por el peróxido de hidrógeno generado por los microorganismos.

Hemólisis beta: lisis total de los glóbulos rojos. Se observó un halo claro, brillante alrededor de la colonia en estudio.

Hemólisis gamma: ausencia de lisis de los glóbulos rojos. El medio de cultivo no presentó modificaciones de color y aspecto alrededor de la colonia en estudio



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 6

PROYECTO: Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

CONTROL DE CALIDAD AL PROTOCOLO DE IDENTIFICAIÓN

Control de Calidad a la Tinción de Gram

Conceptualización: El control de tinciones permite evaluar la calidad de los reactivos, al operador y la calidad del microscopio mediante el uso de cepas controles de afinidad tintorial, morfología y disposición conocida (Herrera & Campos, 2013).

Para dicho control se requiere el uso de una cepa ATCC de *Staphylococcus aureus* o de *Escherichia coli*. Se hace cada vez que se preparan los colorantes. La preparación de colorantes es establecida por cada laboratorio (Herrera & Campos, 2013).

Procedimiento: A la cepa ATCC de *Staphylococcus aureus* se le realizó la tinción de Gram, tomando una colonia de la cepa conocida con una asa estéril, esta se la suspendió sobre una gota de suero fisiológico que se encontraba en una placa portaobjetos; luego que esta se secó al ambiente, se procedió a colocar cristal violeta por 1 minuto; se lavó suavemente con agua y se colocó lugól por 1 minuto; se lavó nuevamente con agua y se colocó alcohol cetona por 30 segundos; una vez más se volvió a lavar con agua y se colocó fucsina básica por 1 minuto, se realizó el ultimo lavado suavemente con agua y se dejó secar. Una vez seca se la observó en el microscopio con lente de 100X utilizando aceite de inmersión.

Observación: Al microscopio, se pudo observar la morfología de las bacterias, su disposición y coloración, identificando claramente que las bacterias tenían una morfología de cocos dispuestos en racimos con una coloración violeta; todo esto acorde con la cepa ATCC de *Staphylococcus aureus*. Así se comprobó que los reactivos de tinción de Gram contaban con la calidad necesaria para el desarrollo de la investigación.

Control de Calidad a la Prueba de Catalasa

Conceptualización: El control de reactivos permite evaluar la calidad de estos, en este caso se trata del agua oxigenada para determinar la calidad en el procesamiento de la técnica, así como la interpretación de los resultados, mediante controles de comportamiento conocido y estandarizado (Herrera & Campos, 2013).

Para dicho control se requiere el uso de una cepa ATCC de *Staphylococcus aureus* o de *Streptococcus*; y realiza cada vez que se abre un nuevo lote.

Procedimiento: A la cepa ATCC de *Staphylococcus aureus* se le realizó la prueba de catalasa, tomando una colonia de la cepa conocida con una asa estéril, esta se la suspendió sobre una gota de agua oxigenada que se encontraba en una placa portaobjetos; procediendo instantáneamente a realizar la interpretación de los resultados.

Observación: La producción rápida y sostenida de burbujas o efervescencia constituye una reacción positiva para la prueba de catalasa, en el caso de no producir efervescencia constituye una reacción negativa; en el resultado obtenido se pudo observar, que la colonia al entrar en contacto con el agua oxigenada produjo efervescencia instantáneamente, donde se comprobó que la cepa era catalasa positiva, ya que esta enzima descompuso el agua oxigenada en agua y oxígeno; todo esto acorde con la cepa ATCC de *Staphylococcus aureus*. Así se comprobó que el agua oxigenada contaba con la calidad necesaria para el desarrollo de la investigación.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 7

PROYECTO: Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

Protocolo de Identificación para *Streptococcus*

a) Tinción de Gram

Conceptualización: El fundamento radica en la diferente estructura de la pared celular de ambos grupos: las bacterias Gram-positivas tienen una gruesa capa de peptidoglicano en su pared, mientras que las bacterias Gram-negativas tienen una capa de peptidoglicano más fina y una capa lipopolisacáridica externa. Tras la tinción con el primer colorante (Cristal violeta) y Lugol se efectuó un lavado con etanol que arrastrará al colorante sólo en las Gram-negativas mientras que en las Gram-positivas el colorante queda retenido y las células permanecerán azules. Las células Gram-negativas se teñirán después con un colorante de contraste (safranina) para que puedan observarse.

Objetivo: Diferenciación de las bacterias presentes en las colonias obtenidas por crecimiento bacteriano en cultivo de Agar sangre de cordero, ya sea cocos o bacilos.

Equipo-materiales

- 1 microscopio óptico
- 1 mechero de Bunsen
- 1 asa bacteriológica
- 1 portaobjetos

- Suero fisiológico

Reactivos

- Reactivos para tinción de Gram
- Aceite de inmersión

Procedimiento

- 1) Limpiar el portaobjeto con gasa y encender el mechero.
- 2) Colocar una pequeña gota de solución salina en el portaobjeto y posteriormente esterilizar el asa bacteriológica.
- 3) Tomar una pequeña muestra de la cepa y diluirla en el portaobjeto.
- 4) Dejar que la placa se seque al ambiente.
- 5) Colocar el portaobjeto sobre un soporte.
- 6) Aplicar sobre el frotis seco y fijo cristal violeta, dejar actuar por un minuto (colorante primario). Lavar con agua.
- 7) Aplicar el Lugol, dejar actuar por un minuto (fijador). Lavar con agua.
- 8) Aplicar alcohol cetona, dejar actuar por 30 segundos (decolorante). Lavar con agua.
- 9) Aplicar fuscina básica, deje actuar por un minuto (colorante contraste). Lavar con agua.
- 10) Dejar que la placa se seque y observar al microscopio con el lente de 100X utilizando aceite de inmersión.

Observaciones

Se analizará:

Morfología: Cocos, cocobacilos, bacilos fusiformes, bacilos, espiroquetas.

Disposición celular bacteriana: racimos, cadenas, pares y tétradas.

Coloración: azul (Gram positivos) y rojas o rosadas (Gram negativos).

b) Técnica de Prueba de Catalasa

Conceptualización: La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de Hidrogeno (H_2O_2) en agua y oxígeno. El peróxido de Hidrogeno se forma como uno de los productos finales del metabolismo aerobio de los hidratos de carbono. Si se permite que se acumule resulta letal para la célula bacteriana. La prueba de la catalasa se usa con mucha frecuencia para diferenciar *Staphylococcus* de miembros de la familia *Streptococcaceae*.

Objetivo: Confirmar la presencia de *Streptococcus* y descartar *Staphylococcus*.

Equipos y Materiales

- Un frasco de Peróxido de Hidrogeno al 3% almacenado en frasco ámbar en frío.
- Un cultivo de 18-24 horas del microorganismo a probar

Procedimiento:

- 1) Colocar una colonia del microorganismo en una placa portaobjetos en los extremos Cocos Gram Positivos a estudiar.
- 2) Poner una gota de agua oxigenada sobre cada una de las colonias.
- 3) Realizar la interpretación del resultado donde la producción rápida y sostenida de burbujas o efervescencia constituye una reacción positiva.

Observaciones:

Si presenta efervescencia = *Staphylococcus*

No presenta efervescencia = *Streptococcus*

Nota: los eritrocitos poseen catalasa, por lo cual se tomará colonias de Agar sangre con extremo cuidado para evitar falsos positivos.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 8

PROYECTO: Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

CONTROL DE CALIDAD DEL KIT PARA DETERMINACIÓN DE GRUPO DE
ESTREPTOCOCOS

Conceptualización: En microbiología existen cada vez más productos comerciales que tienen como objetivo ayudar en el diagnóstico de agentes etiológicos de enfermedades en el menor tiempo posible, con el mayor grado de especificidad y sensibilidad (Herrera & Campos, 2013).

En la prueba de aglutinación en látex las partículas previamente conjugadas con anticuerpos de grupo específico de estreptococos, deben ser probados cada vez que se recibe un nuevo lote y cada vez que se utilicen, deben de analizarse los controles positivo y negativo que vienen con cada juego de reactivos (THERMO, 2016).

Procedimiento: Para comprobar la eficacia de los reactivos de látex pueden emplearse los procedimientos siguientes:

- a) Prueba de reactividad de las suspensiones de látex (Procedimiento del control positivo)

Para una prueba: Dispense una gota (40 μ l) de antígeno de control positivo en la tarjeta de la prueba y mezcle con la suspensión de látex. Mezcle el contenido del círculo con un

bastoncillo de mezcla limpio. Después de rotar la tarjeta con cuidado durante un minuto, debe producirse una aglutinación evidente con todos los látex de la prueba.

b) Prueba de especificidad del método de aglutinación (Procedimiento de control negativo)

Cuando la aglutinación sea muy débil, habrá que repetir las pruebas positivas en paralelo frente a una gota de un extracto preparado (según se describe en el procedimiento del ensayo en medio sólido) con un bastoncillo de mezcla o un asa de inoculación no inoculados. La suspensión de látex no debería presentar una aglutinación significativa y los resultados sirven para comparar directamente la prueba realizada con el extracto de bacterias (THERMO, 2016).

Observación: La prueba se considera positiva cuando aparece la aglutinación con uno de los grupos o cuando la reacción de aglutinación es más fuerte que en los otros cinco. La prueba se considera negativa cuando no aparece aglutinación. Con el desarrollo de los controles positivo y negativo se confirmó la validez del Kit de trabajo para el desarrollo de la investigación.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 9

PROYECTO: Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

PRUEBA RÁPIDA DE AGLUTINACIÓN EN LATEX



INSERTO DEL KIT DE TRABAJO



Key Code TSMX3981F
www.oxid.com/ifu

Europe + 800 135 79 135
CA 1 855 805 8539

US 1 855 236 0910
ROW +31 20 794 7071

Equipo Para ES Determinación De Grupo De Estreptococos

REF DR0585A..... 50

1. INDICACIONES DE USO

Prueba de aglutinación de látex para identificación de *Streptococcus* Grupos A, B, C, D, F y G. Lancefield1 demostró que la mayoría de los estreptococos patógenos poseen antígenos específicos de naturaleza hidrocabonada que permite su clasificación en grupos. Estos antígenos estreptocócicos de grupo, pueden extraerse de las células y ponerse de manifiesto con partículas de látex previamente conjugadas con anticuerpos grupo específicos. Las partículas de látex aglutinarán en presencia del antígeno homólogo, pero permanecerán en suspensión tenue en ausencia del mismo. El Equipo de Grupaje de Estreptococos de OXOID basado en una aglutinación de partículas de látex, utiliza un procedimiento nuevo de extracción enzimática que acorta considerablemente el tiempo requerido para extraer el antígeno incrementando el rendimiento particularmente en lo que se refiere a antígeno de estreptococo Grupo D.

2. KIT COMPONENTS

REF DR0586G..... Látex de Grupaje, Reactivo A
DR0587G..... Látex de Grupaje, Reactivo B
DR0588G..... Látex de Grupaje, Reactivo C
DR0589G..... Látex de Grupaje, Reactivo D
DR0590G..... Látex de Grupaje, Reactivo F
DR0591G..... Látex de Grupaje, Reactivo G
DR0592G..... Control positivo polivalente
DR0593G..... Enzima de Extracción
DR0500G..... Tarjetas de Reacción Desechables

3. DESCRIPCIÓN, PREPARACIÓN PARA EL USO Y ALMACENAMIENTO

Si desea más información, consulte el apartado **Advertencias y precauciones** en este folleto.



Almacenar entre 2 °C y 8 °C, protegido de la luz. Usar en la fecha de caducidad que se indica en la etiqueta o antes. Todos los componentes deben estar a temperatura ambiente (entre 15 °C y 28 °C) antes de su uso; mezclar totalmente por inversión.

Los componentes del kit se pueden intercambiar con otros componentes que tengan el mismo número de referencia. Los componentes se pueden adquirir por separado.

4. PRECAUCIONES

Estos reactivos son exclusivamente para uso "in vitro".

No congelar los Látex de Grupaje.

Cada reactivo de látex debe alcanzar la temperatura ambiente antes de su empleo.

Es fundamental agitar vigorosamente los reactivos de látex para obtener una suspensión homogénea.

Cuando se requiera, reconstituir el Enzima de Extracción con la cantidad de agua destilada que figura en la etiqueta.

El Control Positivo contiene un extracto de los seis grupos antigénicos.

5. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

Conservantes

- 5.1. Todos los reactivos de látex y los reactivos de control positivo contienen un 0,1 % de azida sólida, sustancia clasificada como perjudicial si se ingiere.
- 5.2. La enzima para la extracción contiene un 1,7 % de tiomersal y un 7,32 % de acromopeptidasa, sustancias clasificadas como tóxicas y que producen sensibilidad. A continuación se indican las Instrucciones correspondientes sobre riesgos (H) y precauciones (P):

DANGER



H332	Nocivo en caso de inhalación.
H311	Tóxico en contacto con la piel.
H301	Tóxico en caso de ingestión.
H373	Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.
H334	Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.
H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
H412	Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
P301+P310	EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.
P280	Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
P302+P352	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
P333+P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
P285	En caso de ventilación insuficiente, llevar equipo de protección respiratoria.
P260	No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.
P312	Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar.
P304+P340	EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar.

6. CONSERVACIÓN

LATEX

A. Reactivos de látex

Todos los reactivos de látex deben conservarse a 2-8°C y en vertical. Bajo estas condiciones mantendrán su actividad hasta la fecha de caducidad que figura en la etiqueta.

EXTRACTION ENZYME

B. Enzima de extracción

El liofilizado de Enzima de Extracción debe conservarse a 2-25°C. Bajo estas condiciones mantendrán su actividad hasta la fecha de caducidad que figura en la etiqueta. Tras la reconstitución con agua destilada, conservar a 2-25°C. Bajo estas condiciones mantendrá su actividad 4 meses.

CONTROL+

C. Control positivo

Conservar el Control Positivo polivalente a 2-8°C. Mantendrá su actividad hasta la fecha de caducidad que figura en la etiqueta.

7. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras a identificar, deben sembrarse en agar sangre e incubarse a 37°C, 18-24 horas. Observar la hemólisis de las colonias sospechosas. Es recomendable realizar una tinción de Gram y una prueba de catalasa para confirmar la presencia de cocos Gram-positivos, catalasonegativos. Para más detalles, acudir a los libros de consulta².

Para cada muestra que se vaya a estudiar:

- 7.1. Reconstituir un envase de OXOID Streptococcus Extraction Enzyme (DR-

593) con agua destilada estéril hasta la señal indicada en la etiqueta. Etiquetar los tubos y dispensar 0,4 mL de enzima en cada uno de ellos.

- 7.2. Seleccionar 2-5 colonias equivalente a 2-3mm de crecimiento, con un asa bacteriológica y emulsionar en la solución de enzima. Si las colonias proceden de un cultivo mixto, evitar la contaminación.
- 7.3. Incubar durante 10 minutos a 37°C en un baño de agua. Tras los primeros 5 minutos de incubación, es muy importante retirar cada tubo y agitarlo vigorosamente durante 2-3 segundos. Continuar la incubación a 37°C. Extráigalo y deje que se enfríe a temperatura ambiente. El extracto está preparado para utilizar.

8. MÉTODO

- 8.1. Llevar los reactivos de látex a temperatura ambiente calentando las botellitas con la mano. Agitar vigorosamente para conseguir una suspensión homogénea. (Asegurarse de que no queda látex en el goteador.)
- 8.2. Depositar 1 gota de cada reactivo de látex en el área respectiva de la tarjeta de reacción (DR 500).
- 8.3. Por medio de una pipeta Pasteur, añadir 1 gota de extracto a cada una de las áreas.
- 8.4. Con los bastoncillos que se suministran, extender la mezcla por todo el área de reacción en cada una de las 6 áreas, empleando un bastoncillo distinto cada vez.
- 8.5. Rotar suavemente la Tarjeta. La aglutinación aparecerá en 30 segundos. No rotar la Tarjeta más de 1 minuto. No utilizar una lupa para leer la reacción.
- 8.6. El Control Positivo puede utilizarse para comprobar el funcionamiento de los reactivos de látex.
- 8.7. Desechar las Tarjetas en un desinfectante adecuado.

NOTA: Si se van a realizar pocas pruebas se pueden recortar con tijeras las áreas de reacción a emplear y conservar el resto para uso posterior.

9. CONTROL DE CALIDAD

La prueba de control de calidad debe realizarse con cada remesa y cada vez que se recibe un kit con número de lote nuevo. Todos los laboratorios deben cumplir las normativas estatales y locales.

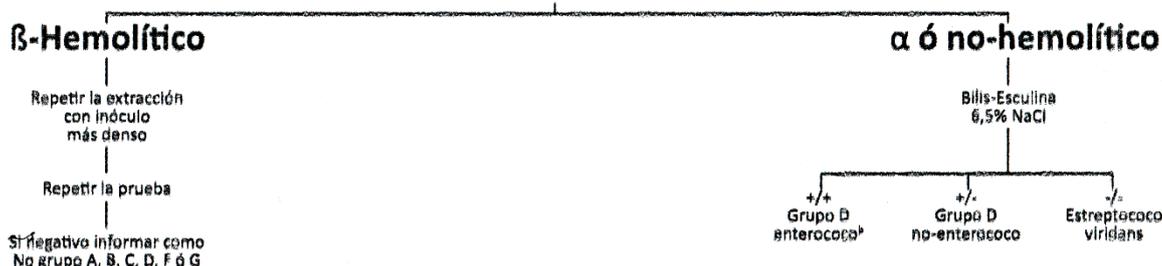
Para comprobar la eficacia de los reactivos de látex pueden emplearse los procedimientos siguientes:

- a) Prueba de reactividad de las suspensiones de látex (Procedimiento del control positivo) Para una prueba: Dispense una gota (40 µl) de antígeno de control positivo en la tarjeta de la prueba y mezcle con la suspensión de látex. Mezcle el contenido del círculo con un bastoncillo de mezcla limpio. Después de rotar la tarjeta con cuidado durante un minuto, debe producirse una aglutinación evidente con todos los látex de la prueba.
- b) Prueba de especificidad del método de aglutinación (Procedimiento de control negativo) Cuando la aglutinación sea muy débil, habrá que repetir las pruebas positivas en paralelo frente a una gota de un extracto preparado (según se describe en el procedimiento del ensayo en medio sólido) con un bastoncillo de mezcla o un asa de inoculación no inoculadas. La suspensión de látex no debería presentar una aglutinación significativa y los resultados sirven para comparar directamente la prueba realizada con el extracto de bacterias.
- c) Lleve a cabo el procedimiento del ensayo completo en cultivos "stock" de grupos conocidos.

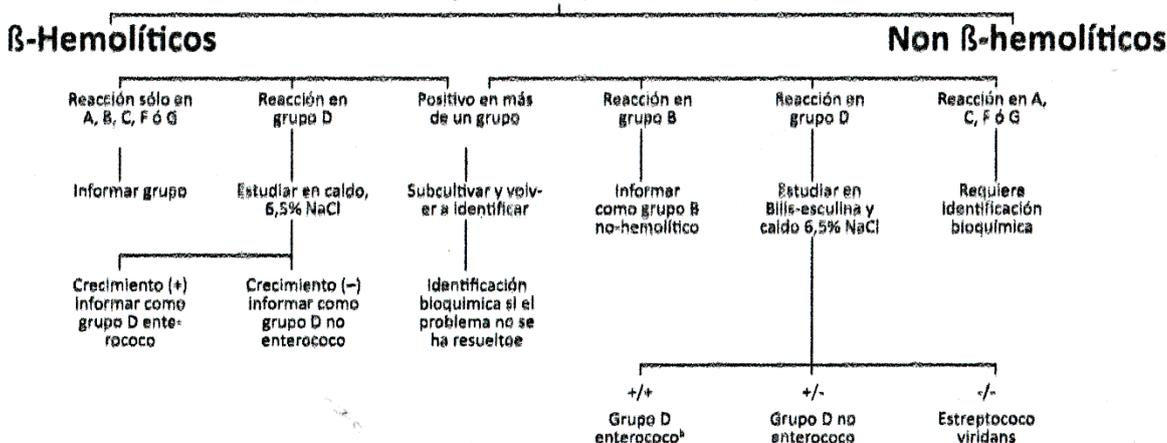
10. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La prueba se considera positiva cuando aparece la aglutinación con uno de los grupos o cuando la reacción de aglutinación es más fuerte que en los otros cinco. La prueba se considera negativa cuando no aparece aglutinación. En algunas ocasiones pueden observarse ligeras trazas de material granular en una reacción negativa. Deben ser ignorados.

Reacción negativa sobre la tarjeta



Reacción positiva sobre la tarjeta



11. LIMITACIONES

Se pueden dar resultados falsos negativos si se utiliza una cantidad inadecuada de cultivo para su extracción.

La mayor parte de todos los estreptococos beta-hemolíticos aislados de infecciones humanas poseen antígenos hidrocarbonados específicos que pueden ser puestos de manifiesto por reacciones serológicas.

Los intentos de aplicar este procedimiento a los estreptococos no beta-hemolíticos han sido infructuosos excepto para los grupos B, D y N. Los estreptococos pertenecientes al grupo N, no se han encontrado hasta el momento en infecciones humanas. Se ha señalado que el reactivo de látex para el Grupo D puede fallar en la reacción con algunas razas de *S. bovis*, estas razas requerirán otros estudios para su identificación. El siguiente diagrama describe el procedimiento recomendado para identificación de estreptococos cuando se utiliza el equipo de aglutinación de látex de OXOID.

Cuando se lleva a cabo una identificación serológica de estreptococos deben realizarse algunas observaciones previas tales como:

- Hemólisis; a, (ii) Morfología celular; b, (iii) Pureza y cantidad del crecimiento.⁴
- Aparte *Streptococcus pneumoniae*. Este estreptococo es α -hemolítico, soluble en bilis y sensible a optoquina. Otros estreptococos no son solubles en bilis y son optoquina-resistentes.⁵
- Los *Aerococcus* son no β -hemolíticos, crecen en caldo 6,5% de NaCl y dan reacciones variables con la bilis-esculina. Pueden diferenciarse de los enterococos por su disposición en tétradas o individuos aislados, mientras los enterococos se disponen como diplococos o en cadenas cortas.⁶
- Los estafilococos o *Listeria monocytogenes* son β -hemolíticos y se diferencian de los estreptococos por su morfología celular y la reacción de la catalasa.^{6,7}
- Subcultivar si el organismo sospechoso presenta un crecimiento insuficiente o es confluyente con otro tipo de colonias.
- Se han encontrado algunas razas que parecen tener los antígenos D y G.⁴

Características de funcionamiento

La formulación del reactivo del enzima de extracción ha sido mejorado. El funcionamiento de Oxoid Streptococcal Grouping Kit con la nueva enzima, ha sido evaluado en un centro de ensayos del sur de Australia. La tabla que figura a continuación muestra los resultados obtenidos.

Sensibilidad y Especificidad del "Streptococcal Grouping Kits"

Cepas ensayadas*		Reactivo Enzima de Extracción Oxoid Streptococcal Grouping Kit ORIGINAL		Reactivo Enzima de Extracción Oxoid Streptococcal Grouping Kit MEJORADO		Kit Competencia	
Grupo Lancefield	No.	SENSIBILIDAD %	ESPECIFICIDAD %	SENSIBILIDAD %	ESPECIFICIDAD %	SENSIBILIDAD %	ESPECIFICIDAD %
Ninguno	56	N/A	99.4	N/A	99.1	N/A	99.4
A	30	100	100	100	100	100	100
B	29	100	100	100	100	100	100
C	30	96.6	99.5	96.6	99.5	96.6	99.5
¹ D (Streptococci)	2						
¹ D (Non-Streptococci)	47	83.7	100	92	99.7	63.3	100
F	25	92	99.4	92	99.4	92	99.4
G	32	100	94.7	100	95.2	100	96
TOTAL	251	94.3	98.9	96.4	98.9	89.2	99.2

* Todas las cepas fueron ensayadas con cada uno de los seis reactivos de grupaje.

¹ Un determinado número de estreptococos Grupo D de Lancefield pueden dar una reacción D/G. Este resultado ha sido incluido en los cálculos como un verdadero positivo Grupo D y falso negativo Grupo G. Es conocido en la literatura, que existen cepas del Grupo D que también producen antígenos G con la extracción enzimática.

12. REFERENCIAS

- Lancefield R.C. (1938) Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 38, 473.
- Facklam R.R. (1980) In 'Manual of Clinical Microbiology', 3rd Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C., pp. 88-110.
- McIlmurray M.B. (1984) Lancet, i, 1353.
- Birch B.R., Keaney M.G.L. and Gangull L.A. (1984) Lancet, i, 856-857.
- Facklam R.R. and Carey R.B. (1985) In 'Manual of Clinical Microbiology', 4th Edition. Eds. Lennette E.H., Balows A., Hausler W.J., Shadomy H.J., Amer. Soc. for Microbiol., Washington, D.C., pp. 154-175.
- Kloos W.E. and Jorgensen J.H. (1985) In 'Manual of Clinical Microbiology', 4th Edition, pp. 143-153.
- Bortolussi R., Schlech W.F. and Albritton W.L. (1985) In 'Manual of Clinical Microbiology', 4th Edition, pp. 205-208.

13. DEFINICIÓN DE LOS SÍMBOLOS

	Nº del catálogo
	Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro
	Consultar las instrucciones de uso
	Límite de temperatura (Temp. de almacenamiento)
	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Código del lote (nº de lote)
	Fecha de caducidad
	Fabricado por



Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke
Hants RG24 8PW, UK

IFU X3981F, Revisado en mayo el año 2016

Para obtener asistencia técnica, por favor póngase en contacto con su distribuidor local.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 10

PROYECTO: Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Introducción: El presente trabajo investigativo se realizará como trabajo previo a la obtención del título de Licenciatura en Laboratorio Clínico tiene como propósito conocer la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

N° de usuario	Código	Semana de gestación	Siembra en Agar Sangre de cordero	Agar Sangre de cordero (morfología)	Tinción de Gram de las colonias	Hemólisis	Prueba de catalasa	Aglutinación
1	971	30	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	gamma		
2	1006	29	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
3	1020	30	no hay crecimiento					
4	1053	27	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
5	1065	30	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
6	1066	29	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		

7	1068	35	hay crecimiento	Colonias Puntiformes, opacas y grisáceas	cocos gram positivas en cadenas	beta	negativa	Aglutina para el estreptococo del Grupo F
8	1293	28	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	gamma		
9	1250	33	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
10	1261	27	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocos gram positivas en racimos	gamma	positiva	
11	1267	28	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocos gram positivas en racimos	gamma	positiva	
12	1268	29	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocos gram positivas en racimos	alfa	positiva	
13	94	34	no hay crecimiento					
14	116	29	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
15	122	28	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
16	126	27	no hay crecimiento					
17	131	34	no hay crecimiento					
18	144	30	no hay crecimiento					
19	165	39	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
20	170	37	no hay crecimiento					
21	184	33	no hay crecimiento					
22	185	31	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	gamma		

23	205	30	no hay crecimiento					
24	423	33	no hay crecimiento					
25	424	37	no hay crecimiento					
26	426	32	no hay crecimiento					
27	439	32	hay crecimiento	Colonias Puntiformes, opacas y grisáceas	cocos gram positivas en cadenas	beta	negativa	Aglutina para el estreptococo del Grupo G
28	498	27	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
29	529	34	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocos gram positivas en racimos	gamma	positiva	
30	785	29	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	beta		
31	789	28	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
32	833	30	no hay crecimiento					
33	855	36	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
34	900	31	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
35	906	38	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocos gram positivas en racimos	beta	Positiva	
36	989	33	hay crecimiento	Colonias Puntiformes, opacas y grisáceas	cocos gram positivas en cadenas	beta	negativa	Aglutina para el estreptococo del Grupo F
37	1005	34	no hay crecimiento					

38	1010	28	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
39	1211	37	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	gamma		
40	1230	40	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
41	1203	32	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
42	1233	27	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	gamma		
43	1263	31	no hay crecimiento					
44	1279	32	hay crecimiento	Colonias Puntiformes, opacas y grisáceas	cocos gram positivas en cadenas	beta	Negativa	Aglutina para el estreptococo del Grupo F
45	1298	28	no hay crecimiento					
46	1557	29	no hay crecimiento					
47	1566	27	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	gamma		
48	73	31	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
49	79	29	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocos gram positivas en racimos	gamma	Positiva	
50	98	33	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocos gram positivas en racimos	beta	Positiva	
51	320	31	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	beta		
52	325	30	no hay crecimiento					

53	326	27	no hay crecimiento					
54	359	29	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
55	364	30	no hay crecimiento					
56	400	27	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocos gram positivas en racimos	gamma	Positiva	
57	401	35	hay crecimiento	Colonias Convexas, mucosas y grisáceas	cocobacilos gramvariables	alfa		
58	415	31	no hay crecimiento					
59	427	32	hay crecimiento	Colonias Puntiformes, opacas y grisáceas	cocos gram positivas en cadenas	beta	negativa	Aglutina para el estreptococo del Grupo F
60	435	35	no hay crecimiento					



MARJORIE CHAMBA
TESISTA RESPONSABLE



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 11

PROYECTO: Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

REPORTE DE RESULTADOS

	UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO
NOMBRE: FECHA:	
Resultado	
CULTIVO DE SECRECIÓN VAGINAL PARA IDENTIFICACIÓN DE <i>Streptococcus agalactiae</i>	
NEGATIVO	
	
<hr style="width: 20%; margin: 0 auto;"/> RESPONSABLE MARJORIE CHAMBA TESISTA	

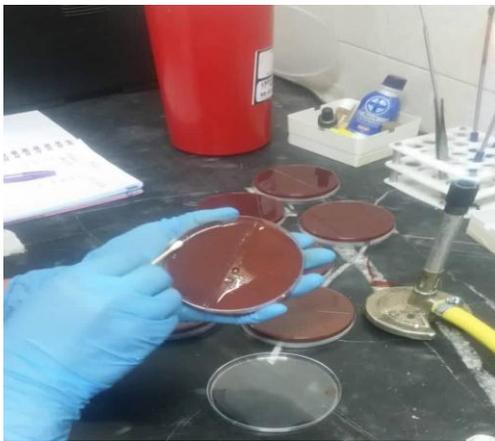


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 12

PROYECTO: Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

EVIDENCIA FOTOGRÁFICA



Siembra de muestra de secreción vaginal en agar sangre



Creación de un medio anaerobio productor de CO₂



Gasa humedecida y producción de CO₂; propio para crear una atmósfera necesaria para microorganismos anaerobios



Crecimiento bacteriano en Agar Sangre de Cordero



Prueba de Catalasa; placa superior con resultado negativo, placa inferior con resultado positivo



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 13

PROYECTO: Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en mujeres en el tercer trimestre de gestación, que asisten al Centro 1 y 2 del Ministerio de Salud-Loja.

CERTIFICACIÓN DE TRADUCCIÓN DEL RESUMEN

Lic. Yohana Novillo Sánchez
DOCENTE DE FINE-TUNED ENGLISH CÍA. LTDA



CERTIFICA:

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés del resumen de tesis titulada "PREVALENCIA DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE EN MUJERES EN SU TERCER TRIMETRE DE GESTACIÓN QUE ASISTEN AL CENTRO 1 Y 2 DEL MINISTERIO DE SALUD-LOJA" AUTORÍA DE LA Srta. Marjorie Alexandra Chamba Salinas con número de cédula 1150006482, egresada de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja.

Lo certifica en honor a la verdad y autorizo a la interesada hacer uso del presente en lo que a sus intereses convenga.

Loja, 30 de Agosto de 2018

Lic. Yohana Novillo Sánchez
DOCENTE DE FINE-TUNED ENGLISH CÍA. LTDA



Líderes en la Enseñanza del Inglés

Fine-Tuned English Cía. Ltda. | Teléfono 2578899 | Email venalfine@fnetunedenglish.edu.ec | www.finetunedenglish.edu.ec

LOJA: Fine-Tuned English, Macará entre Miguel Riofrio y Rocafuerte. 2578899, 2563224, 2574702
ZAMORA: Fine-Tuned Zamora, García Moreno y Pasaje 12 de Febrero. Teléfono: 2508169
CATAMAYO: Fine-Tuned Catamayo, Av. 24 de Mayo 08-21 y Juan Montalvo. Teléfono: 2678442

