

## Original breve

Alberto Tenorio-Abreu<sup>1</sup>  
José Antonio Gómez-  
Fernández<sup>1</sup>  
Luis Arroyo-Pedrero<sup>2</sup>  
Esmeralda Rodríguez-  
Molins<sup>3</sup>

# Evaluación de un nuevo dispositivo para la recogida de la muestra, transporte y detección del estreptococo del grupo B en mujeres embarazadas

<sup>1</sup>UGC Microbiología Complejo Hospitalario Universitario de Huelva.

<sup>2</sup>Unidad de Microbiología Hospital Rafael Méndez, Lorca.

<sup>3</sup>UGC Farmacia Hospitalaria Complejo Hospitalario Universitario de Huelva.

## RESUMEN

Se ha diseñado un dispositivo de nueva invención que combina recogida, transporte, cultivo y detección del estreptococo del grupo B (EGB) sin necesidad de procesamiento ni manipulaciones intermedias, de manera que simplifique todo el proceso. El objetivo ha sido evaluar el rendimiento y utilidad de dicho dispositivo en la detección del EGB en mujeres embarazadas. Se comparó el nuevo prototipo en paralelo con la siembra directa de las muestras vagino-rectales en el medio sólido Granada en placas tradicionales. Mediante la siembra directa se detectaron 124 muestras positivas de 600 (20,6%). Mediante el nuevo dispositivo se detectaron las mismas que en siembra directa y además 10 adicionales 134/600 (22,3%). La utilización del nuevo dispositivo podría ser considerada en la práctica clínica asistencial de rutina para el cribado del EGB mediante previo acuerdo de comercialización.

**Palabras clave:** Estreptococo del Grupo B; mujer embarazada; cribado.

## Evaluation of a new device for sample collection, transport and detection of Group B *Streptococcus* in pregnant women

### ABSTRACT

We have designed a new device that combines sample collection, transportation, culture and detection of Group B *Streptococcus* (GBS), requiring no additional processing in the clinical laboratory. The objective was to evaluate the performance of this device for GBS detection in pregnant women.

Correspondencia:  
Dr. Alberto Tenorio Abreu.  
Hospital Juan Ramón Jiménez, Ronda Exterior Norte s/n 21005 Huelva  
Tfno: 657929483  
E-mail: albeteno@hotmail.com

The new prototype was compared to direct plating of vaginal-rectal swabs onto Granada solid media plates. Direct plating method detected 124 positive samples out of 600 (20.6%) whereas the new device detected 10 additional positive samples (134/600, 22.3%). This new device (patent-protected) could be considered for routine GBS screening.

**Keywords:** Group B *Streptococcus*; pregnant woman; screening.

## INTRODUCCIÓN

El estreptococo del grupo B (EGB) está considerado como una de las bacterias principales causantes de sepsis neonatal<sup>1-3</sup>. Aunque la incidencia es relativamente baja, su alta mortalidad hace que se considere necesario consensuar estrategias de prevención para evitar graves o fatales episodios. Actualmente, para la profilaxis de la sepsis neonatal causada por el EGB se recomienda realizar un cribado en mujeres embarazadas entre la semana 35-37 de gestación para actuar con efectividad en la prevención intraparto, según las recomendaciones internacionales de los *Centers for Diseases Control and Prevention* (CDC)<sup>4</sup>. La muestra óptima sobre las cuales se debe realizar el cribado son frotis vagino-rectales obtenidos con torunda, primero por introducción vaginal, seguido de introducción anal con ligera rotación para mejorar el rendimiento. La torunda debe inocularse en medio de transporte Stuart-Amies hasta su procesamiento. La detección de laboratorio del EGB se puede realizar mediante método de cultivo o mediante técnicas moleculares. Los CDC recomiendan para la recuperación del EGB de las muestras, la utilización de caldos de enriquecimiento como el Todd Hewitt o el Lim, con o sin antibióticos que supriman parte de la flora acompañante, para posteriormente subcultivarlo en placas de agar sangre para detectar la beta hemólisis. También se utilizan con buen rendimiento medios cromógenos y medios con nutrientes que favorecen la producción de pigmentos de color naranja por los EGB como es el medio Granada. En el último documento consenso español<sup>5</sup>, también se contempla la posibilidad de inocular de forma directa la to-

runda en el medio sólido Granada sin necesidad de utilizar caldo de enriquecimiento previo. En cualquier caso, se necesita un dispositivo de toma y transporte de muestra y posteriormente un procesamiento en el laboratorio de microbiología que requieren de manipulación para la inoculación en caldo, en placa directa o ambas combinadas en secuencia temporal tras incubaciones anaerobias entre 24-48 horas. En el presente estudio, se ha diseñado un dispositivo prototipo casero de nueva invención que combina inoculación del medio, transporte, cultivo y detección del EGB sin necesidad de procesamiento ni manipulaciones intermedias, de forma que simplifique el proceso y elimine errores de etiquetado de muestra y manipulación. El objetivo ha sido evaluar el rendimiento y utilidad de dicho prototipo en la detección del EGB en mujeres embarazadas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñó y patentó por los autores del presente estudio, un dispositivo casero a modo de prototipo consistente en un tubo cilíndrico de plástico con un lateral cubierto en lengüeta por medio sólido Granada (Becton Dickinson, USA) y conteniendo en el fondo 800 µl de caldo Todd Hewitt con antibióticos (Becton Dickinson, USA), respetando las condiciones de almacenaje y tiempo de caducidad del fabricante de ambos componentes (figura 1). El tapón del dispositivo disponía de rosca debidamente aflojada para permitir la entrada de la atmósfera anaerobia durante la incubación. Se diseñó para que en un solo dispositivo se pudiese inocular la muestra, transportar, enriquecer y detectar el EGB sin necesidad de manipulación y pasos intermedios. Se realizó un estudio piloto en el que se comparó la siembra directa de las muestras vagino-rectales en el medio sólido Granada en placas tradicionales (Becton Dickinson, USA), con la posterior inoculación del nuevo tubo con las mismas torundas usadas del paciente. El nuevo dispositivo fue sembrado del siguiente modo: primero se sembró la lengüeta y posteriormente se sumergió la torunda en el medio de enriquecimiento. Las placas y tubos se incubaron en vertical a 37°C durante 48 horas en atmósfera anaerobia (con el tapón ligeramente desenroscado). A las 24 horas se realizó una primera lectura y el nuevo dispositivo se inclinó lo suficiente como para bañar la superficie del agar de la lengüeta con el medio líquido enriquecido. El crecimiento de colonias de color naranja (de cualquier tonalidad: intensa, media o tenue) se consideró positivo según las instrucciones del fabricante (Becton Dickinson, USA), tanto en las placas como en el nuevo dispositivo. El límite de detección del nuevo dispositivo se determinó por inoculación en triplicado de diluciones seriadas de concentración conocida según la escala de MacFarland. Se realizaron inoculaciones seriadas por triplicado, de 1000, 100, 10 y 1 Unidades Formadoras de Colonia (UFC). La especificidad de las muestras consideradas positivas se determinó mediante la identificación de las colonias naranjas con el sistema de identificación API Rapid Strep (Biomérieux). Así mismo, también se probó con siembras de cepas control de la colección ATCC: *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylo-*



**Figura 1** Dispositivo para transporte, cultivo y detección del EGB. Tubo de la izquierda: muestra positiva. Tubo de la derecha: muestra negativa.

*coccus aureus* ATCC 25923, *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Proteus mirabilis* ATCC 43071 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Todas las cepas control se probaron en dispositivos a los tres meses de su fabricación casera para verificar la estabilidad del producto.

## RESULTADOS

El límite de detección del nuevo dispositivo fue de 1 UFC de EGB obteniéndose resultados positivos en todas las inoculaciones seriadas por triplicado. Para el estudio piloto se incluyeron un total de 600 muestras vagino-rectales. Mediante la siembra directa se detectaron 124 muestras positivas de 600 (20,6%). Mediante el nuevo dispositivo se detectaron, además de las mismas que en siembra directa, 10 adicionales con un resultados global de 134 muestras positivas de 600 (22,3%). Todas las muestras consideradas positivas de cualquier intensidad (fuerte, media o tenue) fueron confirmadas mediante el sistema de identificación API Rapid Strep (Biomérieux). Los resultados con las cepas control fueron los siguientes: *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386: crecimiento de colonias de

color naranja; *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615: crecimiento de colonias pequeñas de color ligeramente grisáceo; *Enterococcus faecalis* ATCC 29212: crecimiento de colonias de tamaño mediano de color gris; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923: sin crecimiento; *Bacteroides fragilis* ATCC 25285: sin crecimiento; *Proteus mirabilis* ATCC 43071: sin crecimiento; *Escherichia coli* ATCC 25922: sin crecimiento. Los resultados de las cepas control testados en dispositivos a los tres meses de su fabricación fueron idénticos a los de reciente fabricación.

## DISCUSIÓN

Tras revisión de la bibliografía relacionada, no se encontró ningún estudio que utilizara dispositivo similar ni para el transporte y detección del EGB ni para otros microorganismos, por lo que se decidió proteger la invención mediante patente con propiedad titular del Servicio Andaluz de Salud cuyo número de solicitud es P201530810. Si existe un medio Granada bifásico comercial con una utilidad similar al presente estudio pero con diseño y materiales diferentes, consistente en un tubo con un caldo y un fondo de medio sólido en polvo que pigmenta con la presencia de EGB tras 48 horas de incubación, pero con rendimientos que no han demostrado ser suficientemente aceptables<sup>6,7</sup>. Aunque la siembra directa en medio granada aporta buenos resultados<sup>8</sup> y está aceptada como método de cribado<sup>5</sup>, existen numerosos estudios que demuestran un mejor rendimiento para la detección del EGB con la utilización de un medio de enriquecimiento seguido de pase a medio sólido<sup>9-11</sup>, bien agar sangre para observar la beta hemólisis o bien un medio cromógeno o medio granada para observar la pigmentación producida por la bacteria. Por eso se decidió unir ambos componentes, enriquecimiento y cultivo en medio granada en un mismo dispositivo, de manera que permitiera simplificar el proceso, evitando errores inherentes a la manipulación, y adecuarse a los mejores rendimientos reportados en la bibliografía para la recuperación del EGB en mujeres embarazadas y así evitar o prevenir en lo máximo posible la transmisión vertical y la aparición de sepsis neonatal por dicha bacteria patógena. Por tanto, el dispositivo realiza las funciones de transporte de muestra, cultivo y detección en un solo paso, evitando procesos y manipulaciones intermedias, simplificando de esta forma la detección de EGB y posibles errores en procesamiento, seguimiento y recepción de la muestra.

La sensibilidad del dispositivo determinada por el límite de detección por inóculo se ha mostrado con un nivel de recuperación excelente, detectándose inóculos de solo 1 UFC de EGB en las series realizadas en triplicado. Por otra parte, la especificidad de la detección mediante la pigmentación de cualquier intensidad del color naranja, también se mostró excelente, con un 100% de especificidad según la confirmación con la identificación mediante el sistema API Rapid Strep y con las cepas control de la colección ATCC probadas.

El estudio piloto realizado en comparación a la siembra directa, muestra resultados prometedores a favor del dispositivo prototipo de nueva invención, detectándose todos los positivos diagnosticados por siembra directa, además de detectar casi un 2% más de muestras positivas. Los resultados

preliminares, no solo mantiene, sino que mejora el rendimiento diagnóstico frente a la siembra directa. Este hecho, es especialmente relevante cuando en este ensayo se ha inoculado el nuevo dispositivo con las torundas previamente sembradas en placas de medio sólido Granada, con la consiguiente disminución del inóculo sembrado en el nuevo dispositivo. Por tanto, esta nueva combinación de medio sólido y de enriquecimiento en un solo dispositivo podría contribuir a disminuir la tasa de incidencia de sepsis neonatal causada por el EGB. De cualquier modo, sería necesario confirmar dichos resultados con estudios más extensos que permitan validar la técnica en centros externos, imprescindible para su posible comercialización.

En conclusión, el nuevo dispositivo, además de recuperar más muestras positivas que la siembra directa, podría ahorrar costes en medios de transporte y manipulaciones intermedias, haciendo más sencillo todo el proceso desde la toma de muestra hasta la lectura e interpretación. Su utilización en un futuro próximo podría ser considerada en la práctica clínica asistencial de rutina para el cribado del EGB mediante previo acuerdo de comercialización y validación externa.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ballard MS, Schönheyder HC, Knudsen JD, Lyytikäinen O, Dryden M et al. The changing epidemiology of group B *Streptococcus* bloodstream infection: A multi-national population-based assessment. *Infect Dis (Lond)*. 2016;12:1-6.
2. Musilova I, Pliskova L, Kutova R, Jacobsson B, Paterova P, Kacero-vsky M. *Streptococcus agalactiae* in pregnancies complicated by preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016;29(7):1036-40.
3. Shah BA, Padbury JF. Neonatal sepsis: an old problem with new insights. *Virulence*. 2014;5(1):170-8.
4. Verani JR, McGee L, Schrag SJ; Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm Rep* 2010;59(RR-10):1-36.
5. Alós Cortés JI, Andreu Domingo A, Arribas Mir L, Cabero Roura L, Cueto Lopez M, López Sastre J, et al. Prevention of perinatal group B Streptococcal disease. Updated Spanish recommendations 2012. *Rev Esp Quimioter* 2012; 25(1):79-88.
6. Tenorio-Abreu A, Gil-Tomás JJ. Diagnostic yield of instant liquid biphasic Granada medium for group B *Streptococcus* detection in pregnant women. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30(6):354-5.
7. Martinho F, Prieto E, Pinto D, Castro RM, Morais AM, Salgado L, et al. Evaluation of liquid biphasic Granada medium and instant liquid biphasic Granada medium for group B *Streptococcus* detection. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008;26(2):69-71.
8. Tenorio-Abreu A, Arroyo LA, Gómez-Alonso B. Enhanced recovery of group B *Streptococcus* in pregnant women screening. *Rev Esp Quimioter*. 2015;28(6):328-9.
9. Romanik M, Nowosielski K, Martirosian G, Poręba R, Sioma-Markowska U. Identification of pregnant women at risk of

*Streptococcus* group B colonisation. Neuro Endocrinol Lett 2011;32(3):308-12.

10. El Aila NA, Tency I, Claeys G, Saerens B, Cools P, Verstraelen H, et al. Comparison of different sampling techniques and of different culture methods for detection of group B *Streptococcus* carriage in pregnant women. BMC Infect Dis 2010;10:285.
11. Pruss A, Galant K, Giedrys-Kalembe S. Analysis of screening tests for *Streptococcus agalactiae* in pregnant women from the West Pomeranian region. Ginekol Pol. 2015;86(8):616-21.