

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**



TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

AISLAMIENTO DE *Streptococcus agalactiae* EN SACO UTERINO, TRACTO URINARIO Y REGIÓN PERIANAL DE MUJERES GESTANTES ENTRE LAS 35 Y 37 SEMANAS ATENDIDAS EN EL CONTROL PRENATAL DEL HOSPITAL NACIONAL DE SANTIAGO DE MARIA, USULUTÁN DE JULIO A SEPTIEMBRE DE 2006.

**PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADO EN LABORATORIO CLINICO**

**PRESENTADO POR:
GLENDA LIZZETTE FLORES RAMOS
HILDA MARINA TENAS CALEDONIO BLANCO
GERMAN RUTILIO ORELLANA RAMÍREZ**

**DOCENTE DIRECTOR
LICENCIADA HORTENSIA GUADALUPE REYES RIVERA**

**NOVIEMBRE DE 2006
SAN MIGUEL, EL SALVADOR, CENTROAMERICA**

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

AUTORIDADES

DOCTORA MARIA ISABEL RODRÍGUEZ

RECTORA

INGENIERO JOAQUÍN ORLANDO MACHUCA GÓMEZ

VICERRECTOR ACADÉMICO

LICENCIADA CARMEN ELIZABETH RODRIGUEZ DE RIVAS

VICERRECTORA ADMINISTRATIVA

LICENCIADA ALICIA MARGARITA RIVAS DE RECINOS

SECRETARIA GENERAL UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

LICENCIADO PEDRO ROSALIO ESCOBAR

FISCAL GENERAL

FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL

AUTORIDADES

LICENCIADO MARCELINO MEJIA GONZÁLEZ

DECANO

LICENCIADO NELSON DE JESUS QUINTANILLA

VICEDECANO

LICENCIADA LOURDES ELIZABETH PRUDENCIO

SECRETARIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

AUTORIDADES

DOCTORA LIGIA JEANNET LOPEZ LEIVA

JEFA DEL DEPARTAMENTO

LICENCIADA LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA

COORDINADORA DE LA CARRERA DE LICENCIATURA EN LABORATORIO

CLÍNICO

LICENCIADA ELBA MARGARITA BERRIOS CASTILLO

COORDINADORA GENERAL DEL PROCESO DE GRADUACION

ASESORES

LICENCIADA HORTENSIA GUADALUPE REYES RIVERA

DOCENTE DIRECTOR

LICENCIADA ELBA MARGARITA BERRIOS CASTILLO

ASESORA DE METODOLOGÍA

INGENIERO SANDRA NATZUMIN FUENTES SANCHEZ

ASESORA DE ESTADÍSTICA

AGRADECIMIENTOS

A DIOS TODO PODEROSO

*POR DARNOS FORTALEZA Y GUIARNOS POR EL CAMINO CORRECTO PARA
LOGRAR LA META PROPUESTA*

A LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

POR PROPORCIONAR BASES SÓLIDAS PARA LA FORMACION ACADEMICA.

A LA SECCION DE CIENCIAS NATURALES

*POR PROPORCIONAR LAS INSTALACIONES PARA ENRIQUECER NUESTROS
CONOCIMIENTOS.*

AL HOSPITAL NACIONAL DE SANTIAGO DE MARIA

POR EL APOYO PARA NUESTRA FORMACION PROFESIONAL

AL DOCTOR VLADIMIR MORAN

POR LA AYUDA BRINDADA PARA LA REALIZACION DE ESTA INVESTIGACION.

A LA LICENCIADA PATRICIA MARGARITA MERINO DE GUZMAN

POR SU APOYO INCONDICIONAL

AL LICENCIADO JOSE ALCIDES MARTINEZ

*POR ENSEÑARNOS A VER LA VIDA DE LA MEJOR MANERA APLICANDO SOBRE
TODAS LAS COSAS LA JUSTICIA.*

A LA LICENCIADA MARIA DE LA PAZ RODRIGUEZ

DE FORMA ESPECIAL POR COMPARTIR SUS CONOCIMIENTOS

A LA SEÑORA LUZ ALTAGRACIA LEON

POR SU APOYO MORAL Y ESPIRITUAL

A LA SEÑORA ROSARIO CORTEZ

POR SU APOYO

A NUESTRAS ASESORAS

LICENCIADA HORTENSIA GUADALUPE REYES RIVERA

LICENCIADA ELBA MARGARITA BERRIOS CASTILLO

INGENIERA SANDRA NATZUMIN FUENTES

*POR SU APORTACION Y DEDICACION PARA NUESTRA FORMACION
PROFESIONAL.*

MIL GRACIAS

DEDICATORIA

A DIOS TODOPODEROSO

POR DARME LA FORTALEZA PARA SEGUIR ADELANTE Y LA FUERZA DE VOLUNTAD NECESARIA PARA LOGRAR LA META PROPUESTA.

A MIS PADRES

DANIEL FLORES ULLOA (Q.D.D.G) Y EMILIA RAMOS Vda. de FLORES POR SU APOYO INCONDICIONAL Y POR IMPULSARME A LOGRAR MIS IDEALES.

A MIS SEGUNDOS PADRES

JOSE SALVADOR HERNANDEZ Y ROSA LILIAN GUZMAN DE HERNANDEZ POR SUS CONSEJOS.

A MIS ABUELOS

BLANCA HILDA PASTORA Vda. de GUZMAN, EXEQUIEL RAMOS GUZMAN (Q.D.D.G), TULIO CESAR ULLOA, VICTORINA FLORES Vda. de QUINTANILLA POR SU CARIÑO.

A MIS HERMANOS

POR SU APOYO Y COMPRENSION.

A MIS SOBRINOS

CON MUCHO CARIÑO ESPECIALMENTE A ROLANDO GABRIEL MARTINEZ FLORES POR ENSEÑARME CON SU TERNURA A PERDONAR.

A MIS TIOS

CON MUCHO AMOR.

A MIS PRIMOS

CON AMOR FRATERNA.

A MIS AMIGOS

CON MUCHO CARIÑO ESPECIALMENTE A LUCIE ESTEHE MARAVILLA FLORES POR ENSEÑARME EL VERDADERO SIGNIFICADO DE LA AMISTAD Y ESTAR CONMIGO SIEMPRE.

A MI DOCENTE ASESORA

LICENCIADA HORTENSIA GUADALUPE REYES RIVERA

A MIS COMPAÑEROS DE TESIS

HILDA MARINA TENAS Y GERMAN RUTILIO ORELLANA POR ACOMPAÑARME Y AYUDARME A SUPERAR TODOS LOS OBSTACULOS PARA LLEGAR A LA CULMINACION DE UN SUEÑO.

GLENDIA FLORES.

DEDICATORIA.

A DIOS TODOPODEROSO, A MARIA SANTISIMA Y AL ESPIRITU SANTO
POR HABERME DADO LA SABIDURIA DE SEGUIR ADELANTE.

A MIS PADRES

TOMASA BLANCO Y PEDRO FERNANDO TENAS POR SU APOYO
INCONDICIONAL.

A MI ABUELA

FELIPA FUENTES POR SU APOYO MORAL Y ESPIRITUAL.

A MIS HERMANOS

POR SU APOYO CARIÑO Y COMPRESION.

A MIS SOBRINOS

CON GRAN AFECTO

A MIS TIOS

POR SU APOYO

A MIS CUÑADOS (AS)

POR SU AYUDA

A MIS COMPAÑEROS DE TESIS.

*GLENDIA FLORES Y GERMAN ORELLANA GRACIAS POR SU TOLERANCIA Y
COMPRENSION.*

A MIS AMIGOS

POR BRINDARME SU APOYO

A MI DOCENTE ASESORA

LICENCIADA HORTENSIA GUADALUPE REYES RIVERA

MARINA TENAS

DEDICATORIA.

A DIOS TODOPODEROSO

POR GUIARME POR EL BUEN CAMINO.

A MIS PADRES

BENICIO ORELLANA ZELAYA Y GLORIA MILAGRO RAMIREZ POR TODO EL APOYO QUE ME BRINDARON TANTO ECONOMICAMENTE COMO MORAL Y EMOCIONAL

A MIS HERMANOS

*INMER DAGOBERTO ORELLANA RAMIREZ, GILMA ILVEA ORELLANA RAMIREZ
CON AMOR FRATERNAL*

A MI ABUELA

JOSEFINA ZELAYA VIUDA DE ORELLANA POR AYUDA ESPIRITUAL.

A MIS TIOS

POR EL APOYO BRINDADO.

A MIS PRIMOS

CON AFECTO.

A MI CUÑADA

OLGA MARILÚ GARCIA CON MUCHO CARIÑO.

A MI SOBRINA

GABRIELA MILAGRO ORELLANA GARCIA CON MUCHO AMOR.

A MI ASESORA DE TESIS

LICENCIADA HORTENCIA GUADALUPE REYES RIVERA.

A MIS COMPAÑEROS DE TESIS

*GLENDY Y MARINA POR TODOS LOS SACRIFICIOS SOPORTADOS PARA
OBTENER LA META PROPUESTA.*

A MIS AMIGOS

CON MUCHO AFECTO.

GERMAN ORELLANA

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGS.
RESUMEN	XVIII
INTRODUCCIÓN	XX
 CAPITULO I	
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.1. Antecedentes del Fenómeno en estudio.....	2
1.2. Enunciado del Problema.....	5
1.3. Objetivos de la Investigación.....	6
1.3.1. Objetivo General.....	6
1.3.2. Objetivos Específicos.....	7
 CAPITULO II	
2. MARCO TEÓRICO: BASE TEÓRICA	9
2.1. Anatomía de los Órganos Genitales Femeninos.....	9
2.2. Embarazo	13
2.3. Riesgo en el Proceso de Gestación y Parto.....	13
2.4. Características Generales de Streptococcus.....	14
2.5. Identificación de Streptococcus.....	17
2.6. Factores de Virulencia de Streptococcus.....	17
2.7. Epidemiología y Transmisión.....	20
2.8. Importancia Clínica.....	22
2.9. Diagnóstico de Laboratorio.....	23

2.10. Definición de Términos Básicos.....	25
CAPITULO III	
3. SISTEMA DE HIPÓTESIS.....	29
3.1. Hipótesis de Trabajo.....	29
3.2. Hipótesis Nula.....	29
3.3. Hipótesis Alternativa.....	29
3.4. Definición Conceptual y Operacional de las Variables.....	30
CAPITULO IV	
4. DISEÑO METODOLÓGICO	32
4.1. Tipo de Investigación	32
4.2. Población.....	32
4.3. Muestra.....	33
4.4. Tipo de Muestreo.....	33
4.5. Criterios de Inclusión	33
4.6. Criterios de Exclusión	34
4.7. Técnicas de Obtención de Información	34
4.8. Técnicas de Laboratorio.....	34
4.9. Instrumentos, Materiales y Reactivos.....	46
4.10. Equipo de laboratorio.....	48
CAPITULO V	
5. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	55
5.1. Tabulación, análisis e interpretación de resultados.....	55

5.2. Prueba de hipótesis	60
CAPITULO VI	
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	76
6.1. Conclusiones.....	76
6.2. Recomendaciones.....	78
BIBLIOGRAFÍA.....	80
ANEXOS	
Anexo 1: Cronograma de actividades generales.....	84
Anexo 2: Cronograma de actividades específica mes de Julio.....	85
Anexo 3: Cronograma de actividades específica mes de Agosto.....	86
Anexo 4: Cronograma de actividades específica mes de Septiembre.....	87
Anexo 5: Toma de muestra de secreción de fondo de saco uterino.....	88
Anexo 6: Examen directo con solución salina de secreción de Saco uterino.....	89
Anexo 7: Coloración de secreción de saco uterino por de la tinción de Gram.....	90
Anexo 8: Esquema de la coloración de Gram.....	91
Anexo 9: Marcha bacteriológica para Urocultivo.....	92
Anexo 10: Marcha bacteriológica para Hisopado Rectal.....	93
Anexo 11: Preparación de Agar Sangre y MacConkey.....	94
Anexo 12: Preparación de medio Granada Instantáneo.....	95
Anexo 13: Inoculación del Caldo Todd – Hewitt.....	96
Anexo 14: Prueba de CAMP.....	97
Anexo 15: Procedimiento para la prueba de la Bacitracina.....	98

Anexo 16: Guía de entrevista dirigida a la población objeto de estudio.....	99
Anexo 17: Guía de control de Laboratorio aplicada a la población en estudio.....	101
Anexo 18: Área de bacteriología.....	103
Anexo 19: Toma de muestra de fondo de saco uterino.....	104
Anexo 20: Siembra de secreciones.....	105
Anexo 21: Muestras en incubación.....	106
Anexo 22: Resultados positivos en medio de granada.....	107
Anexo 23: <i>Streptococcus agalactiae</i> en TSA y Agar sangre.....	108

RESUMEN

El *Streptococcus agalactiae* miembro de la flora bacteriana normal de vías genitales femeninas y causante de sepsis neonatal así como de meningitis y neumonía.

En nuestro país únicamente se han realizado 2 estudios, el primer estudio se realizó en el Hospital de Maternidad donde no se logró aislar ningún caso positivo; el segundo estudio se hizo en el Hospital de San Francisco Gotera donde se aisló un caso positivo de 45 pacientes muestreadas.

Durante los meses de Julio a Septiembre de 2006 se realizó en mujeres gestantes entre las 35 a 37 semanas un estudio para conocer el estado de salud de estas; así también comprobar la existencia de *Streptococcus B-agalactiae* en los sitios anatómicos como son: Fondo de Saco Uterino, Tracto Urinario y Región Peri anal.

Esta iniciativa nació debido a los casos de aborto registrados en el Hospital Nacional de Santiago de María, razón por la cual se trabajó con las pacientes atendidas en el control prenatal siendo un número de 41, a estas se les explicó el objetivo del estudio, la forma de recolectar las muestras (Orina, Fondo de Saco Uterino y Región peri anal).

Posteriormente se les citó para la toma de muestras a las gestantes que estuvieran en las 35 a 37 semanas (durante la 3ra semana de Julio hasta la 1ra semana de Septiembre).

Se realizaron cultivos a las muestras obtenidas en los medios de Mac Conkey, Agar Sangre, Medio de Granada y Caldo Todd – Hewitt con Gentamicina, siendo estos dos últimos en los que se logro aislar *Streptococcus B- hemolítico* .

De la población en estudio dos pacientes resultaron positivas a *Streptococcus agalactiae* lo que corresponde a un 4.88% de la población total.

En los exámenes microscópicos: Directos y coloración de Gram. Se observaron 5 casos positivos a vaginosis; 2 a causa de levaduras; haciendo un porcentaje de 4.88 % y 3 casos ocasionados por *Gardnerella vaginalis* con un porcentaje de 7.32%, de esta manera se demuestra un desequilibrio en la Flora Bacteriana de las gestantes.

El sitio anatómico contaminado por *Streptococcus B- hemolítico* fue Fondo de Saco Uterino.

A estas pacientes se les atendió previo al parto con Trimetoprim – Sulfametoxazol; Posteriormente a los hijos de estas se les realizaron pruebas al nacer y a los 7 días como son: Hemograma completo, Recuento de plaquetas, Proteína “C” reactiva y Eritrosedimentación; obteniéndose resultados que no indicaban secuelas por dicha infección.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las necesidades de todos los seres humanos se hacen cada día mayores; razón por la cual los países están obligados a buscar estrategias que ayuden a suplir las necesidades de la población.

Uno de los principales derechos que tenemos los seres humanos es una “salud integral”, tomando en cuenta todos los aspectos que forman este término.

Día a día los gobiernos y organizaciones no gubernamentales, están enfocados en promover la salud, principalmente en el caso de las mujeres y niños; con el objetivo de evitar las múltiples infecciones a las que están expuestos.

Es necesario señalar que dichas infecciones han estado presente durante mucho tiempo, probablemente se han producido cambios en cuanto a la etiología de las infecciones.

En los últimos años se ha dado el predominio de agentes etiológicos como bacterias gram positivas, sobre todo *Streptococcus* beta hemolíticos del grupo B (*Streptococcus agalactiae*) causante de sepsis neonatal y meningitis relacionados con partos prematuros y posibles abortos.

Estos casos se observaron en el Hospital Nacional de Santiago de María, Departamento de Usulután durante la práctica hospitalaria; por lo que se hizo necesario desarrollar un estudio para determinar las causas de abortos y partos prematuros, conocer si estos son a consecuencia de procesos infecciosos producidos por *Streptococcus agalactiae*, u otros factores.

De esta forma el Trabajo de Investigación está compuesto por 6 capítulos. En el capítulo I se presenta el planteamiento del problema donde se da a conocer la situación por la cual atraviesa nuestro país y la forma en que éste afecta la salud de la población. En este caso la mujer; siendo ésta la que ocupa el mayor número en población a nivel mundial tomando en cuenta las obligaciones que tiene tanto en el hogar como en la sociedad misma, cuidado y educación de sus hijos, muchas de estas madres se encargan de sostener los hogares ya sea porque son madres solteras o porque la pobreza les obliga a colaborar con la economía. En las mujeres de los países en vías de desarrollo, existe una gran incidencia de mortalidad y morbilidad; por lo menos el 35% de las mujeres no reciben atención prenatal, cerca del 50% da a luz sin la presencia de una persona calificada y el 70% no recibe atención post parto. En este capítulo se incluye los antecedentes del fenómeno, en los cuales se menciona que según las estadísticas del Hospital Nacional de Santiago de María en el año 2004 de 1,338 partos atendidos 126 corresponden a abortos espontáneos y 16 niños nacieron muertos haciendo un porcentaje de 9.41%.

Para el año 2005 se obtuvo un total de 1,290 partos, de los cuales 186 corresponden a abortos espontáneos y 18 niños nacieron muertos haciendo un porcentaje de 14.4%. Así mismo forma parte de este capítulo el enunciado del problema el cual se presenta como una interrogante a la cual se le ha dado una respuesta.

A continuación se mencionan los objetivos tanto generales como específicos, los cuales describen los logros alcanzados a medida se desarrollo la investigación

Otra parte fundamental es el marco teórico que corresponde al capítulo II el cual abarca toda la información relacionada con el tema de investigación, entre la que destaca la anatomía de órganos genitales femeninos, embarazo, riesgos obstétricos durante esta etapa, características generales de los Streptococcus entre otros, también se incluye un listado de términos básicos que será de gran ayuda para los lectores que aborden este tema. Posteriormente en el capítulo III se presentan las respuestas tentativas de la investigación el cual corresponde al sistema de hipótesis, constituido por hipótesis de trabajo, hipótesis nula e hipótesis alternativa, con la correspondiente conceptualización y operacionalización de variables. En el capítulo IV se explica el diseño metodológico el cual dirige y orienta la forma en que se desarrolló el estudio, el tipo de investigación, los métodos y procedimientos que se siguieron, así como los materiales, equipo y reactivos que se utilizaron. También se presentan los pasos que se siguieron desde la planificación de actividades hasta el momento de la ejecución del muestreo.

En el capítulo V se presentan los resultados que se obtuvieron durante la investigación. El capítulo VI esta formado por las conclusiones y recomendaciones a las cuales se llegaron. Asimismo se incluye la bibliografía consultada, el cronograma de actividades: generales y específicas que se realizaron durante la planeación y ejecución del proyecto. Finalmente se presentan los anexos, los cuales serán de gran ayuda para una mejor orientación a la investigación.

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Antecedentes del Fenómeno de la Investigación.

El problema de salud en El Salvador, no se puede estudiar aisladamente de la crisis estructural que atraviesa el país; ya que se relaciona con los problemas económicos, políticos, sociales y culturales, los cuales determinan la calidad de vida de la población influyendo así en la insatisfacción de necesidades vitales como una atención adecuada la cual está asociada con la presencia o ausencia de enfermedades.

Algunos de los factores económicos que son determinantes en la calidad de vida de la población son: la realización de la actividad económica poco remuneradas e inestables y el desempleo (que constituye una limitante en los ingresos familiares).

Entre los factores sociales está el analfabetismo y la falta de conocimiento que tiene la población en cuanto al proceso salud – enfermedad.

También influyen las medidas económicas impuestas por el estado, las cuales afectan principalmente a los sectores de bajos recursos económicos; de igual manera las medidas encaminadas a la privatización de los servicios básicos particularmente en el área de salud, viéndose afectada principalmente la población más vulnerable como son los niños, ancianos y las mujeres embarazadas.

Durante los últimos años *Streptococcus agalactiae* o Streptococcus Beta hemolítico del grupo B ha demostrado ser un agente etiológico importante, con un amplio espectro de infecciones sobre todo en neonatos y en adultos susceptibles (diabéticos, alcohólicos, entre otros).

Esta bacteria es un Coco Gram Positivo, anaeróbico facultativo, comúnmente se encuentra colonizando la vagina y la región anorectal de la población femenina, con más frecuencia en mujeres embarazadas.

“La cifra de colonización vaginal asintomática se encuentra entre 5% y 35%, en las mujeres embarazadas hasta con un 60% las cuales pueden ser portadoras del microorganismo en forma intermitente”.¹

En los neonatos es un patógeno muy importante, porque causa neumonía, sepsis y meningitis, con un alto grado de mortalidad. En las madres se encuentra comprometido en infecciones intrauterinas, fiebre post parto, infecciones urinarias y bacterianas.

“Aunque la transmisión madre- hijo ocurre de 29% a 70 % de los casos no todos los neonatos desarrollan infecciones”.²

“En nuestro medio del 11% al 13% de las gestantes son portadoras vaginales o rectales del *Streptococcus agalactiae*”(2003,2004 y 2005).³

En las estadísticas obtenidas en años anteriores en el Hospital Nacional de Santiago de María se puede constatar que de un 9.41% a un 14.4% de niños nacen muertos; y de los partos atendidos un gran porcentaje son abortos espontáneos.

En nuestro medio no existe una amplia información sobre este tema, solamente los estudios que se realizaron en el Hospital de Maternidad donde no se pudo aislar ningún caso positivo, en esta ocasión se muestrearon 28 mujeres; y la investigación

¹/ KONEMAN, Elmer Arlen, Stephen; JANDA, Willian. Diagnóstico Microbiológico.

²/ *Streptococcus agalactiae*. Infección neonatal. Documento (Disponible en www.streptococcusagalactiate.com)

³/ *Streptococcus agalactiae*. Control calidad. Documento (Disponible en www.streptococcusagalactiate.com)

realizada en el Hospital Nacional de San Francisco Gotera en el año 2005, donde se aisló un caso en el muestreo de 45 gestantes.

En la investigación realizada en el Hospital de Maternidad se utilizaron los medios de cultivo: Agar Sangre y MacConkey, a diferencia de la investigación que se hizo en el Hospital de San Francisco Gotera donde en los procedimientos realizados se incluyó el uso de un medio específico para *Streptococcus agalactiae*, Medio de Granada.

En el presente trabajo se hizo uso de medios comunes entre los cuales destacan Agar Sangre y MacConkey, medios selectivos como es el medio de Granada; así también se utilizó el Caldo Todd Hewitt para proporcionar mayor sensibilidad al método, ayudando de esta forma a hacer más efectivo el aislamiento del microorganismo y obtener resultados confiables en la investigación

1.2. Enunciado del Problema.

Por lo planteado anteriormente se considera de gran importancia responder esta interrogante: ¿Existirá *Streptococcus agalactiae* en saco uterino, tracto urinario y región perianal de mujeres entre las 35 y 37 semanas de gestación?

Así también el grupo investigador dio respuestas a los siguientes enunciados específicos:

1. ¿Que sitio anatómico se encuentra mayormente colonizado por *Streptococcus agalactiae*?
2. ¿Qué porcentaje de mujeres presentó infección por *Streptococcus agalactiae*?
3. ¿Los hijos de las mujeres colonizadas por *Streptococcus agalactiae* manifestarán procesos sépticos a consecuencia de dicha infección .

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1. OBJETIVO GENERAL.

Determinar la presencia de *Streptococcus agalactiae* en saco uterino, tracto urinario y región perianal.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- ✓ Realizar marcha bacteriológica para cultivo de secreción de saco uterino, orina e hisopado rectal (utilizando Caldo Todd Hewitt, medio de Granada, Agar Sangre, MacConkey, Tinción de Gram y Prueba de CAMP).

- ✓ Comprobar la presencia de *Streptococcus agalactiae* en saco uterino a través de la siembra y coloración de secreción de fondo de saco uterino en caldo Todd Hewitt y posterior inoculación en medio de Granada, Agar Sangre, Mac Conkey y Tinción de Gram.

- ✓ Determinar la presencia de *Streptococcus agalactiae* en el tracto urinario por medio de cultivo de orina en medios como: Caldo Todd Hewitt medio de Granada, MacConkey y Agar Sangre.

- ✓ Obtener las muestras de la región perianal utilizando la técnica de hisopado rectal inoculándolo en Caldo Todd Hewitt para su posterior subcultivo en medios de Granada, Agar Sangre y MacConkey.

- ✓ Comparar los resultados obtenidos de los diferentes sitios anatómicos para determinar cual presenta mayor colonización por *Streptococcus agalactiae*.

- ✓ Verificar la existencia de trastornos en los niños nacidos de mujeres colonizadas por *Streptococcus agalactiae* a través de los resultados de pruebas indirectas como: Hemograma Completo, Proteína c reactiva y Eritrosedimentación.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

BASE TEÓRICA

2.1. ANATOMIA DE LOS ORGANOS GENITALES FEMENINOS.

UTERO

Es un órgano en el cual el óvulo fecundado normalmente anida y en el que el organismo en desarrollo crece y es nutrido hasta su nacimiento. La cavidad del útero y de la vagina por debajo forman juntos el conducto del parto, a través del cual pasa el feto al término de la gestación.

El útero varía en forma y tamaño, localización y estructura, estas variaciones dependen de la edad y de otras circunstancias, como el embarazo. Se encuentra localizado en la pelvis, su posición no es fija y cambia con el grado de llenado de la vejiga, la cual está debajo y por delante y con el grado de dilatación del recto.

El útero cambia durante el embarazo y después del parto aumentando tremendamente de tamaño, en el tercer mes de gestación por arriba del nivel de la sínfisis del pubis, en el sexto mes alcanza el plano supracristaleo y en el octavo mes llega a nivel de la articulación xifosternal, en el noveno mes desciende cuando la circunferencia máxima de la cabeza fetal empieza a encajarse por debajo del estrecho superior de la pelvis.

Después del parto sufre un proceso llamado involución donde poco a poco reduce de tamaño y de peso hasta seis u ocho semanas, después alcanza su estado

definitivo en el cual es aproximadamente 1 cm más grande en todas sus dimensiones que antes del embarazo.

VAGINA

Es el extremo inferior del conducto del parto y sirve como conducto excretorio del producto de la menstruación. La cavidad de la vagina se comunica con la del útero por arriba y se abre en el vestíbulo de la vagina por debajo.

En la parte posterior descansa sobre el recto. En la mujer adulta cuando la vejiga está vacía el eje de la vagina forma aproximadamente un ángulo recto con el eje del útero; sin embargo este aumenta cuando la vejiga se llena y empuja el fondo del útero.

La vejiga es muy dilatable, especialmente en la parte que está por arriba del diafragma pélvico.

RECTO

Es la porción del intestino grueso que se encuentra entre el colon sigmoideo y el conducto anal.

La porción rectosigmoideo está arbitrariamente localizada a nivel de la mitad del sacro o y está marcada por un estrechamiento.

El recto no está bien delimitado en relación con el colon sigmoideo, los cambios en la estructura al pasar de uno a otro son graduales.

La forma de el depende de si está vacío o está lleno y también varía con los individuos. Este se encuentra en la porción dorsal de la cavidad pélvica y sigue la

curvatura del sacro y el cóccix, otra curvatura anteroposterior se localiza en la unión del recto y el conducto anal.

“El conducto anal es la parte del intestino grueso que se extiende desde el nivel de la cara superior del diafragma pélvico hasta el ano. Este es el orificio terminal del tubo digestivo, la porción superior del conducto está marcado por el anillo anorectal y este se puede palpar por el recto”.⁴

La flora bacteriana de la vagina es muy abundante y heterogénea por lo cual es muy difícil interpretar los aislamientos de microorganismos a partir de secreciones vaginales.

Por ello es muy recomendable basar el diagnóstico de la vaginosis bacteriana en los resultados del examen directo al fresco con solución salina y coloreado por el método de Gram.

El desplazamiento de la flora normal de lactobacilos por los bacilos Gram Negativos rectos (*Gardnerella*) y curvos (*mobiluncos*) indica la presencia de vaginosis bacteriana.

Microorganismos del Tracto Genitourinario.

Microorganismos

Ubicación

Acinetobacter spp

Uretra anterior, Vagina.

Bacterioides sp

Genitales Externos.

⁴ /GARNER, Ernest, Gray Dojnal, DRAHILLY, Renan. Anatomía Humana. 5° Edición,. México, SALVAT Editores S.AS. de C.V., 1992, 928 Pág.

<u><i>Bifidobacterium sp</i></u>	Vagina
<u><i>Candida albicans</i></u>	Genitales externos, Vagina, Uretra Anterior
<u><i>Chlamydia spp</i></u>	Uretra, Vagina
<u><i>Clostridium sp</i></u>	Vagina
<u><i>Corynebacterium spp</i></u>	Genitales externos, Vagina, Uretra anterior
<u><i>Enterobacteriaceae</i></u>	Genitales externos, Vagina, Uretra anterior
<u><i>Enterococcus</i></u>	Genitales externos, Vagina, Uretra anterior
<u><i>Fusobacterium spp</i></u>	Genitales externos, Vagina
<u><i>Gardnerella vaginalis</i></u>	Uretra anterior, Vagina.
<u><i>Lactobacillus spp</i></u>	Vagina
<u><i>Moraxella spp</i></u>	Vagina
<u><i>Mycobacterium spp</i></u>	Genitales externos, Vagina Uretra anterior.
<u><i>Micoplasma spp</i></u>	Genitales externos, Vagina, Uretra anterior.
<u><i>Neisseria spp</i></u>	Genitales externos, Vagina, Uretra anterior
<u><i>Peptoestrectococcus spp</i></u>	Genitales externos, Vagina
<u><i>Sarcina spp</i></u>	Genitales externos, Vagina
<u><i>Straphylococcus aureus</i></u>	Genitales externos (raro), Vagina, Uretra anterior
<u><i>Streptococcus agalactiae</i></u>	Vagina
<u><i>Trichomonas vaginalis</i></u>	Uretra anterior, Vagina.
<u><i>Streptococcus viridans</i></u>	Genitales externos (raro), Vagina, Uretra anterior

2.2. EMBARAZO

Comprende tres Etapas.

1. Etapa Ovular: comprende las dos primeras semanas del desarrollo. Desde la fecundación hasta la implantación completa en la pared del útero; el producto se llama huevo o cigoto y constituye el ser humano.
2. Etapa Embrionaria: se extiende desde la tercera semana hasta la octava semana. El nombre que toma el bebé en esta etapa es embrión. Se caracteriza por tener una actividad celular extensa.
3. Etapa Fetal: comienza en la novena semana del desarrollo y finaliza en el nacimiento. El bebé por nacer en esta etapa se llama feto.

El desarrollo durante el período fetal se refiere al crecimiento, aumento de peso y a la diferenciación de tejido y órganos que comenzaron a desarrollarse en período embrionario; un cambio notable que ocurre durante el período fetal es el retraso relativo del crecimiento de la cabeza en comparación con el resto del cuerpo.

Durante el tercero, cuarto y quinto mes es extraordinario el aumento en longitud, mientras que el incremento de peso es llamativo en las últimas semanas.

2.3. RIESGOS EN EL PROCESO DE GESTACIÓN Y PARTO.

Son muchos los riesgos que pueden ocurrir durante el proceso de gestación y parto entre los cuales destacan:

- ✓ Aborto: es un bebé por nacer expulsado antes de las 20 semanas de gestación y que pese menos de 500 gramos.
- ✓ “La alteración de la oxigenación fetal debido a alteraciones de la placenta o del cordón umbilical.
- ✓ Las infecciones como sífilis, toxoplasmosis, citomegalovirus y otros procesos víricos o bacterianos.
- ✓ Alteraciones inmunológicas.
- ✓ Alteraciones nutritivas de la madre”.⁵

Factores obstétricos que suponen riesgo de infección para el Recién nacido.

- ✓ La presencia en el canal del parto de gérmenes transmisibles verticalmente y con capacidad patógena para madre y/o recién nacido.
- ✓ La amenaza de parto prematuro.
- ✓ La rotura prematura de las membranas ovulares.
- ✓ La sospecha clínica de corioamnionítis.
- ✓ Fiebre intraparto.
- ✓ Haber tenido un hijo anteriormente con infección.

2.4. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS *STREPTOCOCCUS*.

Los Streptococcus son anaerobios facultativos; en realidad algunas cepas se desarrollan mejor en condiciones de anaerobiosis.

⁵/ Fundación de Vida. “Servicios de Salud Materna de Buena Calidad”. Revista Prenatal. El Salvador, Impresión Tecnográfica. 3º Edición, 2003.

Muchos cultivos aislados de esta bacteria son estimulados por el aumento de CO₂. Los Streptococcus, Enterococcus y Anaerococos de importancia clínica son homofermentadores lo que significa que el único producto de fermentación de la glucosa es el ácido láctico.

Los Streptococcus también son oxidada negativa, propiedad que juntamente con la coloración de Gram los diferencia con las especies de Neisseria.

Cuando se cultivan en medios líquidos los miembros del género Streptococcus se presentan en cadenas de diplococos o en cadenas.

La determinación de la disposición celular se realiza en forma óptima tiñendo con Gram.

La composición de la pared celular de los Streptococcus es similar a la de otras bacterias Gram positivas y está compuesta fundamentalmente de peptidoglicano en el cual se encuentran embebidas en variedad de carbohidratos, ácidos teicoicos lipoproteínas y antígenos de proteína de superficie.

Algunas especies de Streptococcus se pueden clasificar serológicamente en función de los antígenos de carbohidratos superficiales.

La clasificación de los Streptococcus beta hemolíticos se dan por el sistema de agrupación de Lancefield, el cual consiste en la detección de los antígenos de la pared celular (como en los Streptococcus del grupo D y especies de Enterococcus que los antígenos encontrados en su pared celular son ácidos lipoprotéicos).

Clasificación de los *Streptococcus*.

1. *Streptococcus* beta hemolítico Grupo A (*Streptococcus pyogenes*)

La mayor parte de los *Streptococcus* que contienen antígeno Grupo A son *Streptococcus pyogenes* y beta hemolítico. *Streptococcus pyogenes* es el patógeno humano principal relacionado con invasión local generalizada y trastornos inmunitarios post estreptocócicos.

La infección más frecuente que produce es la laringitis estreptocócica.

De modo típico, produce zonas grandes de hemólisis (1 cm de diámetro) alrededor de colonias mayores de 0.5 cm de diámetro. Son susceptibles a la bacitracina.

2. *Streptococcus agalactiae*

Son *Streptococcus* Grupo B, miembros de la flora normal de vías genitales femeninas y una causa importante de sepsis neonatal, meningitis y neumonía. En forma típica son Beta hemolíticos y producen zonas de hemólisis solo un poco más grandes que las colonias (1 a 2 mm de diámetro). Los *Streptococcus* grupo B hidrolizan el hipurato sódico y dan una respuesta positiva en la prueba de CAMP.

3. *Enterococcus faecalis*

Los enterococcus relacionados con antisueros grupo D, forman parte de la flora intestinal normal. Debido a que el antígeno del grupo D es un ácido teicoico, no es un marcador adecuado desde el punto de vista antigénico.

“La mayor parte no dan hemólisis y a veces son alfa hemolíticos, proliferan en presencia de bilis e hidrolizan la esculina (positivo bilis – esculina). Pueden crecer en NaCl al 6.5% son más resistentes a penicilina G que los *Streptococcus*”.⁶

2.5. IDENTIFICACIÓN DE *Streptococcus agalactiae*.

Las pruebas bioquímicas más utilizadas son el CAMP Test, la hidrólisis del hipurato y la resistencia a discos de bacitracina y cotrimoxazol, aunque ninguna de ellos es específica.

En medios de cultivos especiales, el *Streptococcus agalactiae* produce un pigmento de color rojo naranja que es característico y que permite su identificación directa sin necesidad de otras pruebas. Las cepas no hemolíticas no producen pigmento.

“La identificación definitiva de *Streptococcus agalactiae* requiere la demostración del antígeno específico de grupo, por ejemplo mediante la aglutinación con partículas de latex”.⁷

2.6. FACTORES DE VIRULENCIA DE *Streptococcus agalactiae*

Para que un microorganismo produzca patología es necesario que posea factores que le permitan adherirse a la célula, generar algún tipo de metabolito que dañe al hospedero, ejercer acción tóxica, penetrar en las células, diseminarse a través de los

⁶/ KONEMAN, Elmer, ALLEN, Stephen; JANDA, William. Diagnóstico Microbiológico. 5° Edición. Buenos Aires, Argentina. Editorial Médica Panamericana, 2003. 1432 Págs.

⁷/ *Streptococcus agalactiae*. Control calidad. Documento (Disponible en www.streptococcusagalactiate.com)

tejidos o evitar la actividad defensiva de la fagocitosis o la desarrollada por los anticuerpos naturales o adquiridos ya sea en forma activa o pasiva.

Estos factores pueden estar representados por diversas estructuras generalmente de la superficie bacteriana como fimbrias, otras adhesinas, la capa mucosa, la cápsula, proteína de la membrana externa o bien enzimas como las captadoras de hierro o sideróforos, proteínas con actividad tóxica, segregada al medio o integrando la pared celular, como ocurre con las bacterias Gram negativas y el lipopolisacárido (LPS).

Cuya fracción lipídica constituye la endotoxina, productos metabólicos o enzimas que al ejercer su acción sobre el sustrato producen metabolitos intermedios o terminales con acción deletérea sobre las células y tejidos, como la ureasa que genera amonio con actividad necrosante sobre ciertos tejidos o permite la participación de fosfato amónico, magnesio en la orina actuando como litogénica en el árbol urinario, etc.

En el caso de *Streptococcus* del grupo B (SGB) o *Streptococcus agalactiae*, reconocido agente etiológico de infecciones neonatales severas (meningitis, sepsis precoz y tardía, artritis, neumonía, etc.), se conocen varios factores de virulencia con diferentes categorías patogénicas:

1. Adherencia a las superficies epiteliales.
2. Invasión celular de los epitelios y las barreras endoteliales.
3. Injurias directas de los tejidos.
4. Bloqueo de los mecanismos inmunológicos.
5. Inducción del síndrome séptico.

1. Adherencia a las superficies epiteliales.

Las interacciones iónicas e hidrofóbicas contribuyen a la adherencia, como también lo hacen las adhesinas. Estas pueden ser: proteínas bien definidas como las fimbrias, proteínas no definidas y estructuras no protéicas.

Mediante adhesinas protéicas no bien definidas *Streptococcus* del grupo B (SGB) se pueden unir a las células del epitelio vaginal y a otras células incluyendo la mucosa faríngea, los alvéolos, las membranas placentarias, etc. A diferencia de otros microorganismos, se une eficientemente a las células vaginales humanas al pH ácido habitual.

El ácido lipoteicoico (ALT) que forma parte de la estructura de la pared celular, permite la unión de las células faríngeas fetales más eficientemente que a la de los adultos. Se pueden unir también a proteínas extracelulares como fibronectina, fibrinógeno y laminina.

2. Invasión de las células epiteliales y endoteliales.

Las evidencias experimentales directas acumuladas indican que la invasión celular es un paso crucial en la patogénesis de la enfermedad neonatal por *Streptococcus agalactiae*.

La consecuencia de la invasión o pasaje a través de las células es la causa de la producción de: Amnionitis, aumentando así la exposición fetal a este microorganismo, bacteremia, diseminación sistémica y meningitis. La sepsis adquirida intra útero está dentro de grupo de la denominada sepsis precoz y es generalmente fulminante.

3. Injuria directa de las barreras celulares.

Streptococcus del grupo B, produce una B- Hemolisina con acción citotóxica directa (citolisina formadora de poros). Después de la invasión de las células, se observa la pérdida de la arquitectura de las microvilli y la disrupción de la membrana citoplasmática y nuclear como también una hinchazón marcada de las organelas y del citoplasma en general. Este proceso sería la manifestación de la formación de poros en la membrana celular producida por la hemolisina mencionada.

Además de la B – hemolisina existen proteasas y colagenasas que facilitan la destrucción del tejido placentario y una proteína que degrada el ácido hialurónico que es un componente importante extracelular en los organismos superiores.

Se desconoce la función de la hialuronato liasa pero, teóricamente, facilitaría la diseminación del microorganismo a través de los tejidos y los aislamientos del serogrupo III proveniente de neonatos con enfermedades invasiva la producción en mayor concentración que los provenientes de colonizados o de los adultos con enfermedades no invasiva.

4. Escape de la actividad inmunológica

Una vez que el Streptococcus del Grupo B ha penetrado el pulmón o la sangre se origina una respuesta inmune. Los elementos centrales son los leucocitos neutrofilos y en menor proporción, los macrófagos mononucleares pero para que se produzca la fagocitosis en forma adecuada es necesario que haya ozonización. Sin la participación de anticuerpos específicos ella se produce en forma dramática. Por eso, los neonatos más

susceptibles serían aquellos que tengan un déficit en la : fagocitosis, la concentración de la inmunoglobina serotipo específico ante SGB, la vía clásica y/o la alternativa del complemento.

5. Inducción del Síndrome séptico

El síndrome séptico se produce al fallar las barreras naturales, sean la epitelial o la inmunológica.

Existen dos grandes tipos de presentación clínica: la enfermedad precoz y tardía, después del día 7. La sepsis precoz es casi indistinguible del shock séptico producido por las bacterias Gram negativas: hipotensión, hipertensión pulmonar, hipoxemia tisular y acidosis, inestabilidad térmica, coagulación intravascular diseminada, neutropenia y finalmente fallo sistémico multiorgánico.

2.7. EPIDEMIOLOGÍA Y TRANSMISIÓN

El Streptococcus del grupo B forma parte de la flora normal del tracto gastrointestinal desde donde coloniza la vagina y a veces, al tracto urinario. La colonización del tracto genital puede ser intermitente y es un hecho importante en las gestantes por la posibilidad de transmisión del Streptococcus del grupo B (SGB) en recién nacidos. Las tasas de colonización en las gestantes oscilan entre el 5% y el 35% dependiendo de la población en estudio de los medios y técnicas de cultivo y de las áreas anatómicas de las que se toma la muestra.

La colonización por el SGB en los recién nacidos se produce durante el parto, a partir del tracto genital materno colonizado, o en el útero, por vía ascendente, siendo la tasa de transmisión vertical del 50%.

Hay varios factores obstétricos que se asocian con un mayor riesgo de infección del recién nacido fundamentalmente: Prematuridad (< 37 semanas), la rotura prolongada de las membranas (>18 horas), la existencia de fiebre intraparto (> 38 °C), haber tenido un hijo anterior con infección por el *Streptococcus agalactiae* y la presencia de bacteriuria durante el embarazo causada por este microorganismo.

También la tasa de colonización por *Streptococcus agalactiae* son mayores en los recién nacidos de madres que presentan una alta densidad de colonización vaginal, y en los recién nacidos de gestantes que presentan un bajo nivel de anticuerpos frente a la cepa colonizada de *Streptococcus agalactiae*.

“En los últimos años se ha producido un notable incremento de las infecciones por *Streptococcus agalactiae* en adultos, fuera del período post parto, pero las causas que determinan esta mayor incidencia no están claras”.⁸

2.8. IMPORTANCIA CLÍNICA DE *Streptococcus agalactiae*

Actualmente, *Streptococcus agalactiae* es la principal causa de sepsis neonatal; sin medidas de prevención su incidencia es de aproximadamente 3 casos por mil nacidos vivos (entre el 1% y el 2% de los recién nacidos colonizados por *Streptococcus agalactiae*).

⁸/ *Streptococcus agalactiae*. Control Calidad. SIEMC. Documento (Disponine en www.streptococcusagalactie.com).

“En este la infección suele manifestarse, en las primeras horas de vida, bajo la forma de neumonía, sepsis o meningitis, con una mortalidad próxima al 10% (0.2 – 0.5 casos por mil nacidos vivos)”.⁹

Aunque la existencia de factores obstétricos de riesgo aumenta la probabilidad de infección en el recién nacido, solo en la mitad aproximada de los que presentan una sepsis neonatal se identifica algún factor de riesgo.

El *Streptococcus agalactiae*, es también una causa importante de infecciones en gestantes y puérperas: corioamnionitis, endometritis post parto, infección de la herida quirúrgica tras cesárea e infección del tracto urinario.

La bacteriuria por el *Streptococcus agalactiae* durante el embarazo se asocia con mayor riesgo de parto pretérmino y rotura prematura de membranas, probablemente reflejo de un mayor inóculo vaginal.

2.9. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Para el estudio de las gestantes portadoras del *Streptococcus agalactiae*, se recomienda la toma conjunta de muestra vaginal y anorectal en la 35 a 37 semanas de gestación. Como técnica de cultivo, tradicionalmente se ha recomendado el empleo de caldos de enriquecimiento selectivos (por ejemplo el caldo Todd Hewitt con colistina y ácido nalidixico o gentamicina y ácido nalidixico) con posterior subcultivo en agar sangre e identificación de *Streptococcus agalactiae* a partir de las colonias aisladas, por la prueba de CAMP.

⁹/ Idem.

La prevención de la infección neonatal por el *Streptococcus agalactiae* como alternativa al cultivo tras enriquecimiento, se recomienda el empleo del medio de Granada, que es un medio específico, selectivo y diferencial basado en la detención del pigmento.

Este medio permite la identificación directa de *Streptococcus agalactiae* y presenta una sensibilidad igual a la del cultivo tras enriquecimiento.

El diagnóstico de bacteriuria causada por el *Streptococcus agalactiae* en las gestantes, tiene interés por las complicaciones perinatales que puede ocasionar. El cribado para detectarla debe realizarse por cultivo de la orina.

Las pruebas rápidas, salvo la tinción de Gram, carecen de sensibilidad. Por esto, para mejorar la eficiencia del diagnóstico de la bacteriuria del embarazo, se recomienda el empleo sistemático de un medio de cultivo adicional Agar Sangre o medio de Granada.

Independientemente del número de colonias aisladas, el hallazgo del *Streptococcus agalactiae* en la orina de las embarazadas refleja un fuerte grado de colonización vaginal que obliga hacer profilaxis intraparto para la prevención de la sepsis neonatal precoz.

2.10. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

Aborto: Interrupción espontánea o inducida del embarazo antes de que el feto haya alcanzado un grado suficiente de desarrollo como para poder sobrevivir fuera del útero.

Aborto espontáneo: Interrupción del embarazo antes de la veinte semana de gestación por una anomalía del producto de la concepción o del ambiente materno.

Bacitracina: Es un antibiótico polipeptídico del bacilo subtilis, constituido por tres componentes: bacitracina A, B y C.

Bacteriemia: Presencia de Bacterias en sangre.

Bacteriuria: Presencia de bacterias en la Orina.

Citolisina: Anticuerpo que disuelve células antigénicas.

Colonia: Grupo de microorganismos de un cultivo precedente de una sola célula.

Corioamnionitis: Es la infección de la cavidad amniótica que puede ser acompañada de ruptura prematura de membranas o con el saco amniótico completo.

Embarazo: Gestación o proceso de crecimiento y desarrollo de un nuevo individuo en el seno materno; abarca desde el momento de la concepción hasta el nacimiento, pasando por los períodos embrionario y fetal.

Endometritis: Trastorno inflamatorio del endometrio generalmente debido a una infección bacteriana casi siempre por gonococos o estreptococos hemolíticos.

Endotoxina: Toxina contenida en las paredes celulares de algunos microorganismos, especialmente bacterias Gram negativas, que se liberan cuando la bacteria muere y se degrada en el cuerpo.

Fagocitosis: proceso por el cual determinadas células engullan o desechan microorganismos y detritos celulares.

Feto: Descendiente no nacido de un animal vivíparo, una vez que ha adoptado la forma particular de la especie.

Hematocrito: Nombre que se da a la fracción de volumen eritrocitario y corresponde al volumen ocupado por los eritrocitos con el volumen total de sangre.

Hemoglobina: Es una molécula proteica que constituye el 95% del peso seco eritrocitario. Debido a ello, es el componente funcional más importante del eritrocito.

Hemolisis: Degradación de los hematíes con liberación de hemoglobina.

Hemolisis alfa: Aparición de una zona verdosa en torno a una colonia bacteriana cultivada en un medio de Agar chocolate, característica de los neumococos y de algunos estreptococos y se debe a la descomposición parcial de la hemoglobina del medio.

Hemolisis beta: Desarrollo de una zona clara en torno a una colonia bacteriana cultivada en medio de Agar Sangre, típica de ciertas bacterias patógenas.

Meningitis: Cualquier infección o inflamación de las membranas que recubren el cerebro y la médula espinal.

Opsonización: Proceso por el cual las opsoninas confieren a las bacterias mayor susceptibilidad a la fagocitosis por los leucocitos.

Patogénesis: Origen o causa de una enfermedad o trastorno.

Plaquetas: Fragmentos citoplasmáticos sin núcleo, discoides, planas, ligeramente convexas, que circulan en la sangre y se origina en médula ósea a partir de los megacariocitos.

Sepsis: Infección, contaminación.

Septicemia: Infección sistémica caracterizada por la aparición de patógenos en sangre circulante procedentes de una infección localizada en cualquier parte del organismo.

Útero: órgano reproductor de la mujer, de aspecto periforme.

Vagina: Parte del aparato genital femenino que forma un canal desde el orificio vestibular hasta el cuello del útero.

CAPITULO III

SISTEMA DE HIPÓTESIS

3. SISTEMA DE HIPÓTESIS

3.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Hi. Los sitios anatómicos, saco uterino, tracto urinario y región peri anal de mujeres entre 35 a 37 semanas de gestación se encuentran colonizadas por *Streptococcus agalactiae*, convirtiéndose en un riesgo de infección para el recién nacido.

Hi. Los hijos de mujeres colonizadas por *Streptococcus agalactiae* manifiestan sepsis neonatal.

3.2. HIPÓTESIS NULAS

Ho. El saco uterino, región peri anal y tracto urinario de gestantes entre las 35 a 37 semanas no se encuentran colonizadas por *Streptococcus agalactiae*,

Ho. Los hijos de mujeres colonizadas no presentan sepsis, debido a que estas recibieron tratamiento con antibiótico antes del parto.

3.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVAS

Ha. El saco uterino, región peri anal y tracto urinario de mujeres entre las 35 a 37 semanas de gestación se encuentran colonizadas por otros microorganismos como: *Gardnerella vaginalis* Levaduras y *Trichomonas vaginalis*, convirtiéndose en un riesgo de infección para el recién nacido.

3.4. DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL DE LAS VARIABLES.

Variables:	Colonización por <i>Streptococcus agalactiae</i> .	Saco Uterino, tracto urinario y región peri anal de mujeres gestantes entre 35 y 37 semanas.	Pruebas de laboratorio.
Definición Conceptual:	Colonizar : se refiere a la invasión del organismo por agentes patógenos que se reproducen y multiplican causante de un estado morbooso dentro del huésped. Bacterias Gram Positivas, aerobias, encapsuladas, beta hemolítico del grupo B de Lancefield.	Saco uterino: es el órgano en el cual el óvulo fecundado normalmente anida y en el cual el organonismo en desarrollo crece y es nutrido hasta su nacimiento. Tracto Urinario: órgano femenino de la cópula, extremo inferior del conducto del parto. Región Peri anal: porción del intestino grueso que se encuentra entre el colon sigmoideo y el conducto anal.	Técnicas que se realizan paso a paso dentro del laboratorio para la obtención de resultados.
Definición Operacional:	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Observación Microscópica. ✓ Cultivos y pruebas bacteriológicas. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Secreción de saco uterino. ✓ Orina ✓ Heces 	<p>Toma de secreción vaginal con espéculo.</p> <p>Hisopado rectal, orina al “vuelo”.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Examen directo. ✓ Coloración de Gram. ✓ Cultivo en medios: Todd Hewitt, Granada, MacConkey y Agar Sangre. ✓ Prueba de susceptibilidad a la Bacitracina. ✓ Prueba de CAMP.

CAPITULO IV

DISEÑO METODOLÓGICO

4. DISEÑO METODOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación se caracterizó por ser **prospectiva**, ya que la información se registró según como transcurrieron los fenómenos. Se inició desde el momento en que se citó a la paciente para la toma de muestra en los diferentes sitios anatómicos, la realización de los procedimientos de laboratorio para el procesamiento de la muestra y posterior obtención de resultados.

Según el período y secuencia del estudio es **transversal** ya que las variables se estudiaron simultáneamente en un momento determinado siendo este caso de julio a septiembre de 2006 que fue el tiempo en que duró el muestreo.

Según el análisis y alcances de los resultados la investigación es:

De **laboratorio**: ya que los datos se obtuvieron a partir de la recolección, procesamiento y análisis de muestras de saco uterino, región peri anal y tracto urinario en el Laboratorio Clínico del Hospital Nacional de Santiago de María.

4.2. POBLACIÓN

Fue conformada por la población en estado de gestación que asiste al control prenatal del Hospital Nacional de Santiago de María, no se encontró con un número específico puesto que la cantidad esta en constante fluctuación.

4.3. MUESTRA

Fue tomada de gestantes que se encontraron entre las 35 a 37 semanas de gestación durante el período de muestreo que comprendió de Julio a Septiembre de 2006.

Se contó con 41 mujeres gestantes las cuales fueron seleccionadas de los datos existentes en los archivos del control prenatal; este número indica la cantidad de embarazadas que estuvo entre 35 a 37 semanas durante el tiempo de muestreo.

4.4. TIPO DE MUESTREO.

No probabilístico por cuotas, ya que no se realizó ningún sorteo para la elección de la muestra, además en este muestreo se tomaron en cuenta un número de 41 pacientes que cumplieron con las características de estar entre las 35 a 37 semanas de gestación durante el tiempo en que se realizó el muestreo (2 meses) porque el mes restante fue utilizado para realizar los exámenes a los recién nacidos de madres que resultaron infectadas y de esta forma conocer si el neonato presentó secuelas por la infección.

4.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

-Mujeres entre 35 a 37 semanas de gestación

-Recién nacidos de madres colonizadas por *Streptococcus agalactiae*

4.6 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

-Mujeres gestantes que no estaban entre las 35 a 37 semanas durante la fase de muestreo.

-Recién nacidos de mujeres que no presentaron colonización en saco uterino, tracto urinario y región perianal por *Streptococcus agalactiae*.

4.7 TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE INFORMACIÓN

Para recopilar la información se desarrollaron las técnicas que se destacan a continuación:

La Entrevista.

Se entrevistaron a las pacientes que se encontraron en el control prenatal con el objetivo de obtener información que sirvió de apoyo para el trabajo de investigación.

Se realizaron entrevistas a médicos que laboran en la institución, tal es el caso de médicos generales, pediatras y ginecólogos, con el objetivo de obtener información relacionada a este tema.

4.8. TÉCNICAS DE LABORATORIO

- ✓ Técnica de Hisopado Rectal, para cultivo de secreción perianal.
- ✓ Técnica para la toma de secreción de fondo de saco uterino.

- ✓ Frotis directo y coloración de Gram.
- ✓ Técnica para la prueba de susceptibilidad de la Bacitracina o Taxo “A”.
- ✓ Prueba de CAMP.
- ✓ Procedimiento para hemograma completo.
- ✓ Velocidad de sedimentación globular (VSG).
- ✓ Procedimiento para PCR.
- ✓ Procedimiento para urocultivo.

MARCHA BACTERIOLÓGICA DE HISOPADO RECTAL

Adultos

1. Utilizando un hisopo estéril introducirlo en el recto 3 cm hacia adentro.
2. Dar 3 vueltas hacia la derecha y 3 hacia la izquierda.
3. Luego introducirlo en el caldo Todd – Hewitt.

PROCEDIMIENTO DE TOMA DE MUESTRA PARA LA SECRECIÓN DE FONDO DE SACO UTERINO

1. Colocar a la paciente en posición ginecológica.
2. Introducir el espéculo, tomar con dos hisopos la secreción del endocervix y vagina; se recomienda sea tomada por el médico.

3. El hisopo debe estar estéril e impregnado con solución salina fisiológica al 0.85% estéril.
4. Con un hisopo realizar un frotis para coloración de Gram.
5. Con el otro hisopo tomar más secreción e inocular el caldo Todd Hewitt, incubar de 18 a 24 horas a temperatura ambiente y después inocular los medios Agar Sangre, MacConkey y Medio de Granada.
6. Si la muestra no se procesa de inmediato utilizar medio de transporte como Cary Blair y luego inocular en medios selectivos y diferenciales.

FROTIS DIRECTO Y COLORACIÓN DE GRAM

Esta técnica es de gran importancia ya que permite determinar los microorganismos que están presentes en secreción de saco uterino y ayuda a orientar el análisis del laboratorio.

COLORACIÓN DE GRAM

Fundamento: Este método clasifica a las bacterias en dos grandes grupos: las Gram positivas y las Gram negativas, así la presencia de ribonucleato de magnesio en la pared celular, aparenta mayor acidez de la misma y la afinidad que tienen los enlaces de éster fosfórico por los colorantes básicos, permiten que las bacterias Gram positivas adquieran la coloración violácea.

PASOS PARA LA COLORACIÓN DE GRAM

1. Cubrir el frotis ya fijado y frío con cristal violeta, dejar el colorante por 1 minuto.
Lavar con agua de chorro y escurrir muy bien.
2. Cubrir con lugol de Gram y dejar por 1 minuto. Lavar con agua y escurrir muy bien.
3. Aplicar gota a gota el decolorante alcohol-acetona por 4 a 5 segundos hasta que ya no salga más cristal violeta.
4. Cubrir el frotis con safranina solo por 30 segundos lavar con agua de chorro, escurrir y dejar secar bien.
5. Examinar en el microscopio con el lente de inmersión, con aceite especial de viscosidad adecuada.

Resultados:

- Bacterias Gram positivas: Morado – azul oscuro.
- Bacterias Gram negativas: Rojo.

INTERPRETACIÓN DE LA COLORACIÓN DE GRAM

- a) Si solo se observan bacilos Gram positivos reportar flora normal.
- b) Si se observan predominio de bacilos Gram positivos y escasos bacilos Gram negativos reportar “flora vaginal alterada”.

- c) Si se observan escasos o ningún lactobacilos y predominio de bacilos Gram negativos rectos extra e intra celulares, reportar “Vaginosis bacteriana posiblemente por Gardnerella vaginalis”.
- d) Si hay escasos o ningún bacilo Gram positivo y predominio de bacilos Gram negativos curvos, reportar “Vaginosis bacteriana posiblemente por mobiluncus”.

TÉCNICA PARA LA PRUEBA DE DISCO DE LA BACITRACINA

El taxo “A” o disco de la bacitracina se realiza cuando se tienen colonias Beta hemolíticas puntiformes en Agar Sangre y se presume la existencia de Streptococcus B - hemolíticos del grupo A o Streptococcus pyogenes.

Procedimiento

1. Tomar la muestra con un asa bacteriológica dependiendo las colonias en estudio e inocular una placa de Agar Sangre de carnero al 5% en tres direcciones opuestas (base Mueller Hinton).
2. Colocar el disco taxo A dependiendo las colonias a estudiar.
3. Inocular a 36+/- 1°C por 18 – 24 horas en ausencia de CO₂.

Prueba positiva: hay inhibición sin importar el tamaño.

Si la prueba es negativa para Streptococcus pyogenes hacer la prueba de CAMP.

Para identificar Streptococcus agalactiae.

PRUEBA DE CAMP

Se procede a realizar cuando la prueba de taxo “A” o disco “B” resultó negativa, se utiliza para identificar *Streptococcus agalactiae*.

Procedimiento

1. De las colonias donde se realizó la prueba del taxo A tomar la muestra e inocular en una placa de Agar Sangre de carnero en forma vertical.
2. Se inoculan colonias de ATCC de *Streptococcus aureus* en forma horizontal.
3. Inocular a 36+/-1 °C durante 18 – 24 horas en atmósfera de CO₂.

Resultados:

- Prueba positiva: Se forma una flecha de beta hemólisis indica presencia de *Streptococcus agalactiae*.
- Prueba Negativa: No se forma la flecha de beta hemólisis indica presencia de *Streptococcus sp* beta hemolíticos no grupo A ni B.

TOMA DE MUESTRA PARA HEMOGRAMA COMPLETO

1. Preparar el material a utilizar.
2. Palpar la vena con el dedo índice.
3. Limpiar la zona de punción.
4. Aplicar el torniquete.
5. puncionar la vena con el bisel de la aguja hacia arriba.

6. Extraer un ml de sangre (por tratarse de recién nacido).
7. Soltar el torniquete.
8. Colocar una torunda de algodón y retirar el aguja.
9. Dejar la torunda de algodón.

a) HEMATOCRITO MEDIANTE EL MICROMÉTODO

Procedimiento

- Sangre total mantenida incoagulable con EDTA.
- Dejar que la sangre penetre por capilaridad al tubo capilar de vidrio desechables y no graduados.
- Sellar un extremo del capilar con plastilina.
- Centrifugar a 5,000 rpm por minuto.
- Proceder a la lectura colocando el tubo en una ranura al efecto, de modo que la línea de separación plasma/ eritrocitos coincida con la línea vertical de la ranura.

Valor Normal en recién nacidos 54 +/- 10%

b) MÉTODO DE LA CIANOMETAHEMOGLOBINA

Procedimiento:

- Conectar el fotolorímetro o espectrofotómetro según las especificaciones de la firma comercial.

- Homogenizar bien la sangre mediante agitación suave con un sistema automático (sistema de rodillo o disco giratorio) durante un tiempo mínimo de 5 minutos o manualmente por inversión del tubo 20 veces.
- Pipetear 1 ml de reactivo cianometahemoglobina en un tubo 12 x 100 mm.
- Pipetear 20 microlitos de sangre homogenizada.
- Agitar el tubo mediante inversión con el fin de mezclar sangre – reactivo.
- Leer la absorvancia de la solución a 540 nm utilizando un factor de 29.4
- Margen normal en recién nacidos 17.5 – 21.5g

RECUESTO DE GLÓBULOS BLANCOS

- ✓ Utilizar sangre completa con anticoagulante EDTA.
- ✓ Homogenizar bien la sangre mediante agitación suave durante 5 minutos.
- ✓ Con una micropipeta medir 400 microlitos del reactivo ácido acético glacial al 3%.
- ✓ Colocarlo en un tubo 12 x 75 mm.
- ✓ Con otra micropipeta agregar 20 microlitos de sangre previamente mezclada.
- ✓ Colocar la mezcla sangre – reactivo en una cámara de Neubauer y proceder a contar los Glóbulos blancos en 2 áreas opuestas de la cámara (dependiendo del factor de dilución).
- ✓ El número de glóbulos blancos contados multiplicarlos por el factor de dilución 100.
- ✓ Valor normal en recién nacidos 5,000 – 20,000x mm^3

FÓRMULA DIFERENCIAL LEUCOCITARIA

Procedimiento

- ✓ Realizar un extendido de sangre completa sin anticoagulante.
- ✓ Dejarlo secar a temperatura ambiente.
- ✓ Proceder a colorear por medio de la tinción de Wright.
- ✓ Agregar gota a gota Wright evitando que se derrame.
- ✓ Dejar por 5 minutos.
- ✓ Agregar gota a gota buffer para Wright por 5 minutos.
- ✓ Luego lavar con agua y dejar secar a temperatura ambiente.
- ✓ Proceder a contar 100 células agregando previamente a la lámina aceite de inmersión y enfocar con objetivo 4 x, 10 x, 40 x y 100 x.

Rasgos Normales:

Neutròfilo segmentado	:	25 – 70 %
Neutròfilo en banda	:	0 – 10 %
Eosinòfilos	:	0 – 7 %
Basòfilos	:	0 – 1 %
Linfocitos	:	20 – 25 %
Monocitos	:	2 – 10 %

RECuento DE PLAQUETAS

Procedimiento

- ✓ Utilizando sangre completa con anticoagulante EDTA bien mezclados.
- ✓ Medir con una pipeta 4 ml de reactivo Gower en un tubo de 12 x 75 mm.
- ✓ Con una micropipeta medir 20 microlitos de sangre; mezclar.
- ✓ Colocar la muestra sangre/reactivo en una cámara de Neubauer y dejar por 15 minutos para evitar que se volaticen.
- ✓ Contar toda el área primera central de los glóbulos rojos con objetivo 4x y 40x.
- ✓ El número de plaquetas contadas multiplicarla por el factor de dilución 2,000.
- ✓ Valores normales: 150,000 – 450,000x mm^3

VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR (VSG) (E R I T R O S E D I M E N T A C I Ó N)

Método de Wintrobe.

1. Se toman 2ml de sangre venosa con anticoagulante de hematología y se llena el tubo Wintrobe hasta la señal “O”, para ello introducir cuidadosamente la aguja Wintrobe adaptada a una jeringa conteniendo la sangre, hasta el fondo del tubo y luego suave y cuidadosamente ir retirando la aguja a medida que el tubo se va llenando, cuidando de que no se formen burbujas.

2. El tubo se pone en el soporte de Wintrobe y se mide la altura del plasma hasta el nivel donde comienza la masa de eritrocitos.
3. Reportar milímetros por hora.
4. La eritrosedimentación se lee de arriba hacia abajo.

Valores normales: en recién nacidos: “cero”.

PROTEÍNA C REACTIVA (Pcr, REACTANTE DE FASE)

Procedimiento Cualitativo.

- ✓ Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente.
- ✓ En una lámina depositar 50 microlitos de la muestra y una gota o 50 microlitos de Pcr – latex.
- ✓ Mezclar las gotas con un palillo, procurando extender la mezcla por toda la superficie anterior del círculo.
- ✓ Situar la lámina en un agitador rotatorio de 80 – 100 rpm y agitar durante 2 minutos.

Valores de referencia: 6 mg/l.

PROCEDIMIENTO PARA UROCULTIVO

1. Sacar las placas del refrigerador para que se atemperen.
2. Numerar las placas de acuerdo al número de muestras que corresponda.
3. Mezclar y destapar las muestras.
4. Proceder a inocular los medios primero en Agar Sangre y luego en Mac Conkey.

5. Realizar una estria longitudinal con el asa de platino calibrada (0.001 ml) con asa corriente flameada y fría estriar perpendicularmente toda la placa.
6. Si los medios a inocular están en biplacas seguir el mismo procedimiento inoculando primero en Agar Sangre y luego en Agar MacConkey.
7. Incubar las placas a 36 °C durante 24 horas.

Interpretación:

- a) Si hay crecimiento en Agar Sangre y MacConkey se trata de una enterobacteria. Realizar pruebas bioquímicas para la identificación y antibiograma.
- b) Si hay crecimiento solamente en Agar Sangre se trata de un coco o una levadura.
- c) Realizar pruebas de identificación, observar hemólisis y si lo requiere hacer prueba de susceptibilidad a la bacitracina y prueba de CAMP.

FORMA DE REPORTAR DE ACUERDO AL CRITERIO DE KASS.

- ✓ Menos de 10,000 UFC/ml de orina = Reportar Negativo.
- ✓ De 10,000 – 50,000 UFC/ml de orina = Contaminación. Recomendar tomar nueva muestras.
- ✓ De 50,000 – 100,000 UFC/ml de orina = Nombre de la bacteria y las UFC/ml de orina.

4.9. INSTRUMENTOS, MATERIALES Y REACTIVOS.

Instrumentos

Para recolectar información se hará uso de los siguientes instrumentos:

- Guía de entrevista.
- Hoja de Registro de Laboratorio.

Materiales.

- ✓ Placas de Petri.
- ✓ Agar Base Sangre
- ✓ Agar MacConkey.
- ✓ Sangre de Carnero.
- ✓ Medio de Granada.
- ✓ Caldo Todd Hewitt
- ✓ Asa Bacteriológica en argolla y en punta.
- ✓ Frascos plásticos estériles.
- ✓ Tubos con hisopos
- ✓ Erlenmeyer
- ✓ Probeta.
- ✓ Láminas, laminillas.
- ✓ Guantes de látex

- ✓ Agua destilada
- ✓ Solución salina fisiológica al 0.85%.
- ✓ Lápiz graso
- ✓ Papel bond.
- ✓ Gradillas para tubos de ensayo.
- ✓ Buffer para Wright.
- ✓ Cámara de Neubauer.
- ✓ Capilares.
- ✓ Tirro
- ✓ Plumones, lapiceros.
- ✓ Aplicadores de madera.
- ✓ Algodón
- ✓ Espéculo
- ✓ Bacitracina
- ✓ Cepa de *Staphylococcus aureus*
- ✓ Gabachas
- ✓ Pinzas
- ✓ Aceite de inmersión
- ✓ Pipetas automáticas.
- ✓ Tubos de Wintrobe
- ✓ Tubos plásticos de 12 x 75 mm.

- ✓ Puntas para pipetas.
- ✓ Papel filtro.

Reactivos

- ✓ Cristal violeta para Gram
- ✓ Lugol
- ✓ Safranina
- ✓ Alcohol – acetona
- ✓ Coloración de Wright
- ✓ Gower
- ✓ Ácido Acético
- ✓ Reactivo Pcr – Látex

4.10. EQUIPO DE LABORATORIO

- ✓ Microscopio.
- ✓ Balanza granataria y analítica.
- ✓ Cocina
- ✓ Mechero
- ✓ Esterilizador de asa.
- ✓ Estufa

- ✓ Autoclave
- ✓ Refrigeradora
- ✓ Piano.
- ✓ Rotador
- ✓ Mezclador de tubos
- ✓ Microcentrífuga
- ✓ Génesis.

PROCEDIMIENTO

a) Planeación:

Se inició el proceso de graduación en una reunión informativa con la coordinadora de los procesos de grado en la cual se dieron indicaciones generales relacionadas al proceso de graduación.

Se formaron los grupos de tesis, se asignaron asesores, tanto de contenido como de estadística.

A continuación se programaron actividades en las cuales se explicó como estaría estructurado el trabajo de investigación a saber: perfil, protocolo e informe final.

Posteriormente se tuvieron reuniones con el asesor de contenido para la elección del tema y la elaboración de objetivos.

Seguidamente se elaboró el perfil de investigación y posteriormente se realizó la defensa de este.

b) Ejecución

Se inició con la preparación del área de trabajo, organización de material, reactivos y equipo de laboratorio a utilizar, preparación de medios de cultivo y calibración de equipo.

Se llevó a cabo la preparación de medios de cultivo como Agar Sangre de Carnero al 5% (Ver Anexo N° 11), Agar MacConkey (Ver Anexo N° 11) y medio de Granada (Ver Anexo N° 12). Después se hizo la prueba de funcionabilidad y esterilidad

de los medios que se prepararon, colocar los medios preparados en las placas en la incubadora a $36 \pm 1^\circ\text{C}$.

Los medios que se prepararon se guardaron en refrigeración a 4°C en posición invertida, se anotó la fecha en que se preparó el medio, se verificó la funcionalidad de la cepa de *Streptococcus aureus*.

El medio de Granada se preparó minutos antes de la toma de muestra (Ver Anexo N° 12).

Cuando estuvo preparado todo el material y equipo se procedió a la toma de muestra en el área de control prenatal del Hospital Nacional de Santiago de María.

De acuerdo al listado de las mujeres embarazadas que asistieron al control prenatal se convocarán a las que estuvieron en el período de 35 a 37 semanas.

En la tercera semana del mes de Julio se inició la toma de muestra de secreción de saco uterino, tracto urinario y región perianal. Se tomó la muestra a 8 pacientes por semana, hasta que se alcanzó la cantidad de 41 mujeres en estado de gravidez.

Estas fueron elegidas de acuerdo al número de semanas de embarazo que tenían según los registros del control prenatal.

Se procedió a la toma de muestra de secreción de fondo de saco uterino con hisopos estériles; el primero de estos se utilizó para ser inoculado en el caldo Todd Hewitt.

El segundo hisopo se colocó en un tubo estéril a partir de este se realizó los siguientes procedimientos:

Se realizaron dos preparaciones, la primera se utilizó para el examen directo, Y se observó al microscopio entre lámina y laminilla con el objetivo de verificar microorganismos presentes, la segunda preparación se dejó secar a temperatura ambiente y se procedió a la coloración de gram (Ver Anexo N°4), se observó con objetivo 4x , 10x ,40x, y 100x; y se anotó la morfología bacteriana visualizada.

De la suspensión en el caldo Todd Hewitt se procedió a inocular el medio de Granada, Agar Sangre de carnero al 5% se picó el medio para acelerar la hemólisis; se incubaron las placas en atmósfera de CO₂ a 36+/- 1 °C por 18 – 24 horas, el medio de Granada se debió incubar de 18 – 48 horas a 35 – 37 °C en baño de Maria.

Se realizó la técnica de hisopado rectal para obtener la muestra de secreción de región perianal, se procedió a la inoculación del Caldo Todd Hewitt, 24 horas más tarde se realizó una resiembra en los medios: Granada, Agar Sangre, MacConkey; igual que el cultivo de secreción de fondo de saco uterino con la diferencia, que no se realizó frotis ni tinción de Gram.

Se hizo entrega anticipada de un frasco estéril, para la toma de una muestra de orina; que fue presentado el día que se citó a la paciente.

Se procedió a cultivar la muestra en Agar Sangre de carnero al 5% , Agar MacConkey; por medio del método de estrias .

Dependiendo de los resultados si fueran positivos se procederá a realizar la prueba de CAMP (Ver Anexo N° 14) y prueba de Susceptibilidad a la bacitracina (Ver Anexo N° 15).

Si se obtuviese algún caso positivo se le dará continuidad a la paciente hasta el momento del parto, realizando exámenes al recién nacido como son: Hemograma completo, eritrosedimentación y Proteína c reactiva, con estas pruebas indirectas se podrá ayudar al médico en el diagnóstico presuntivo de sepsis en el recién nacido.

CAPITULO V

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

Tabulación, Análisis e Interpretación de Resultados

Resultados Obtenidos de la Siembra de Secreción de Fondo de Saco Uterino, Orina e Hisopado Rectal

Tabla 1

Streptococcus Agalactiae	Frecuencia Relativa	Porcentaje %	Media	Sitio	Positivos	Negativos
Casos Positivos	2	4.88%	1.333	Saco Uterino	2	39
Casos Negativos	39	95.12%	39.667	Tracto Urinario	1	40
				Región Perianal	1	40
Total	41	100%	41		4	119

Media para los Casos Positivos = Número de casos aislados / Sitios anatómicos:

Número de casos aislados = 4

Sitios anatómicos = 3

Media = $4 / 3 = \underline{1.333}$

Media para los Casos Negativos:

Saco Uterino = 39

Tracto Urinario = 40

Región Perianal = 40

Total de casos negativos = 119

Sitios anatómicos = 3

Media para los Casos Negativos = $119 / 3 = \underline{\underline{39.667}}$

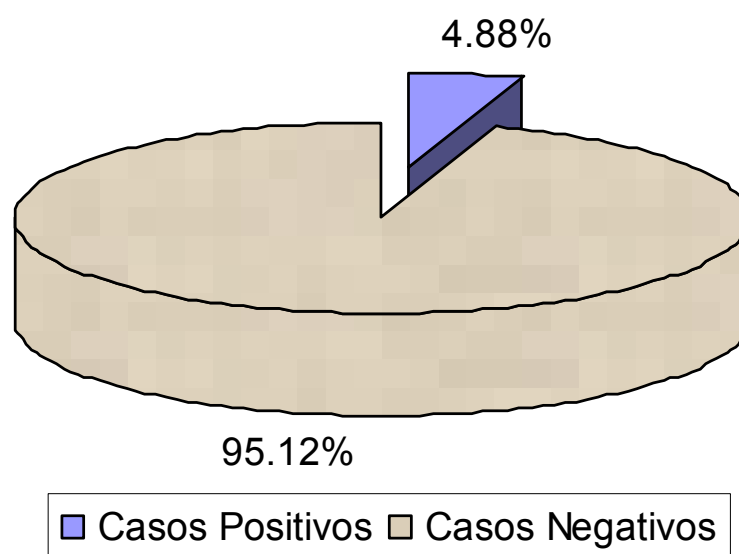
Análisis:

En las siembras realizadas de las muestras obtenidas de los diferentes sitios anatómicos como son: **Saco Uterino, Tracto Urinario y Región Perianal** de un total de 41 mujeres en estado de gestación, se obtuvieron dos pacientes colonizadas por **Streptococcus agalactiae**.

Interpretación:

De las 41 mujeres muestreadas en estado de gravidez, el 4.88% resultaron positivas a **Streptococcus Agalactiae**; comprobándose por el método estadístico de T Student dando como resultado un grado de significación de 4.49% en comparación al porcentaje obtenido matemáticamente de 4.88% lo que significa que a pesar que el porcentaje matemático es mínimo, tiene grado de significancia estadísticamente.

Gráfico 1

Siembra de Secreción de Fondo de Saco terino, Orina e Hisopado Rectal

Fuente: Tabla 1

Resultados Obtenidos de los Diferentes Sitios Anatómicos.

Método Estadístico

Tabla 2

Sitio	Positivos	Frecuenci a	Negativos	di (xi - xi)	di ²
Saco Uterino	2	50%	39	-37	1369
Tracto Urinario	1	25%	40	-39	1521
Región Perianal	1	25%	40	-39	1521
∑ x	4	100%	119	-115	4411

$$\bar{X} = 1.333 \quad 39.667$$

Prueba de T Student

$$d = -115 / 3 = -38$$

$$\sigma^2 d = (38)^2 = 1,444 / 3 = 481.333;$$

$$4,411 - 481.333 / 3 (n - 1) = 4,411 - 481.333 / 2 = \mathbf{1964.833};$$

$$\sigma^2 d = \sqrt{1964.833 / 3} = \mathbf{25.59}$$

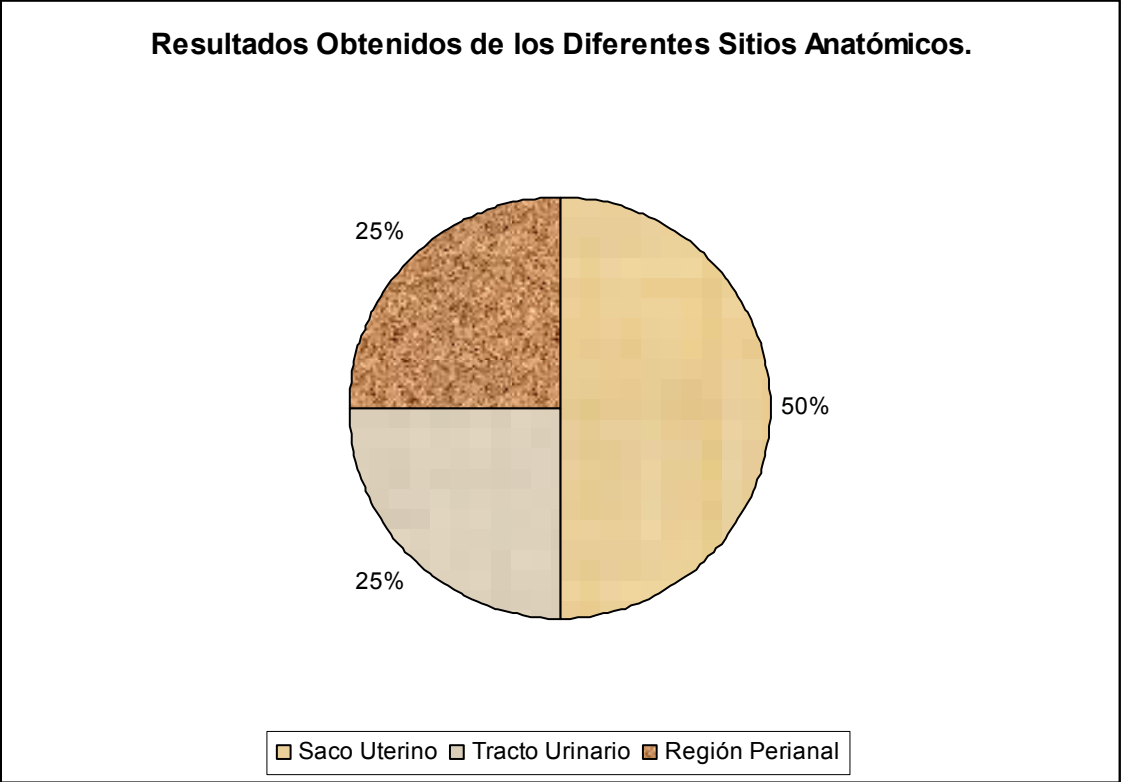
$$t_c = 115 / 25.59 = \mathbf{4.493}$$

Promedio de las diferenciaciones entre las observaciones:

$$\bar{d}_i = \frac{\sum_{i=1}^n d_i}{n}$$

$$d_i = (x_i - \bar{x}_i)$$

Gráfico 2



Fuente. Tabla 2

Prueba de Hipótesis

Comparación de Hipótesis de Trabajo e Hipótesis Nula.

$$t = \frac{\bar{x} - \mu_0}{\sigma / \sqrt{n}}$$

$$\sigma / \sqrt{n}$$

$$\bar{x} = 0.0976$$

$$\sigma = 0.3004$$

$$n = 41$$

$$\mu_0 = 0$$

$$t = \frac{0.0976 - 0}{0.3004 / \sqrt{41}}$$

$$0.3004 / \sqrt{41}$$

$$t = \frac{0.0976 - 0}{0.3004 / 6.40}$$

$$0.3004 / 6.40$$

$$t = \frac{0.0976}{0.0469}$$

$$0.0469$$

$$t = 2.08^*$$

$$gl = n - 1 = 41 - 1 = 40$$

$$0.5\% = 2.02 \text{ (tá)}$$

Interpretación:

Los límites de confianza se encuentran entre 2.02% sobrepasando así la hipótesis de trabajo con 2.08%, razón por la cual se rechaza la hipótesis nula que dice: saco uterino, región perianal y tracto urinario de gestantes entre 35 y 37 semanas no se encuentran colonizados por **Streptococcus agalactiae**.

Análisis

Los sitios anatómicos de la población en estudio atendidas en el control prenatal resultaron positivas a **Streptococcus agalactiae**; siendo necesario el rechazo de la hipótesis nula y aceptando así la hipótesis de trabajo.

Comparación de la Hipótesis Alterna y la Hipótesis Nula.**Tabla 3**

Concepto	Frecuencia	Porcentaje %
Levadura	2	4.88
Gardnerella	3	7.32
Parásitos	0	0.00
Flora Bacteriana Normal	36	87.80
Σ	41	100.00

Análisis:

De 41 exámenes directos y tinción de Gram estudiados se encontraron que únicamente 2 casos resultaron positivos a **levaduras** y en 3 pacientes se observaron **Gardnerella**; los cinco casos correspondieron a pacientes que se encontraban entre las 35 a 37 semanas de gestación.

Interpretación:

De las muestras estudiadas, un 12.20 % resultaron positivos, un 4.88 % corresponden a levaduras y el 7.31 % corresponden a Gardnerella.

Estadísticamente se acepta la hipótesis alterna puesto que un 2.36% de muestras estudiadas correspondieron a otros microorganismos, rechazándose así la hipótesis nula.

$$n = 41$$

$$X = 0.122$$

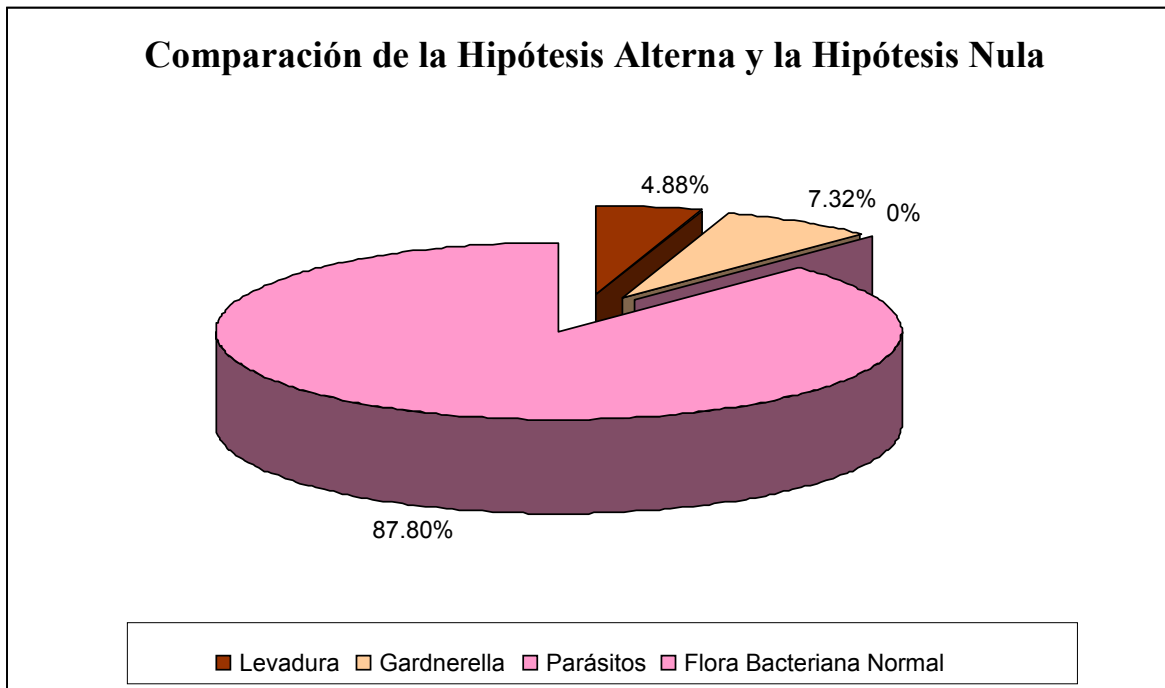
$$S = 0.3313$$

$$t = 0.122 - / 0.3313 \sqrt{41}$$

$$t = 0.122 / 0.3313 / 6.40 = 0.122 / 0.0518 = \mathbf{2.36^*}$$

$$\mathbf{5 \% = 2.02}$$

Gráfico 3



Fuente: Tabla 3

**Bacterias aisladas en los Cultivos de Fondo de Saco Uterino, Tracto Urinario y
Región Perianal.**

Tabla 4

Bacterias Aisladas	Fondo de Saco Uterino		Tracto Urinario		Región Perianal	
	Frecuencia	%	Frecuencia	%	Frecuencia	%
Escherichia coli	4	9.75%	2	4.75%	0	0%
Pseudomona sp	13	31.7%	-	-	6	14.63%
Staphylococcus aureus	1	2.43%	1	2.43%	0	0%

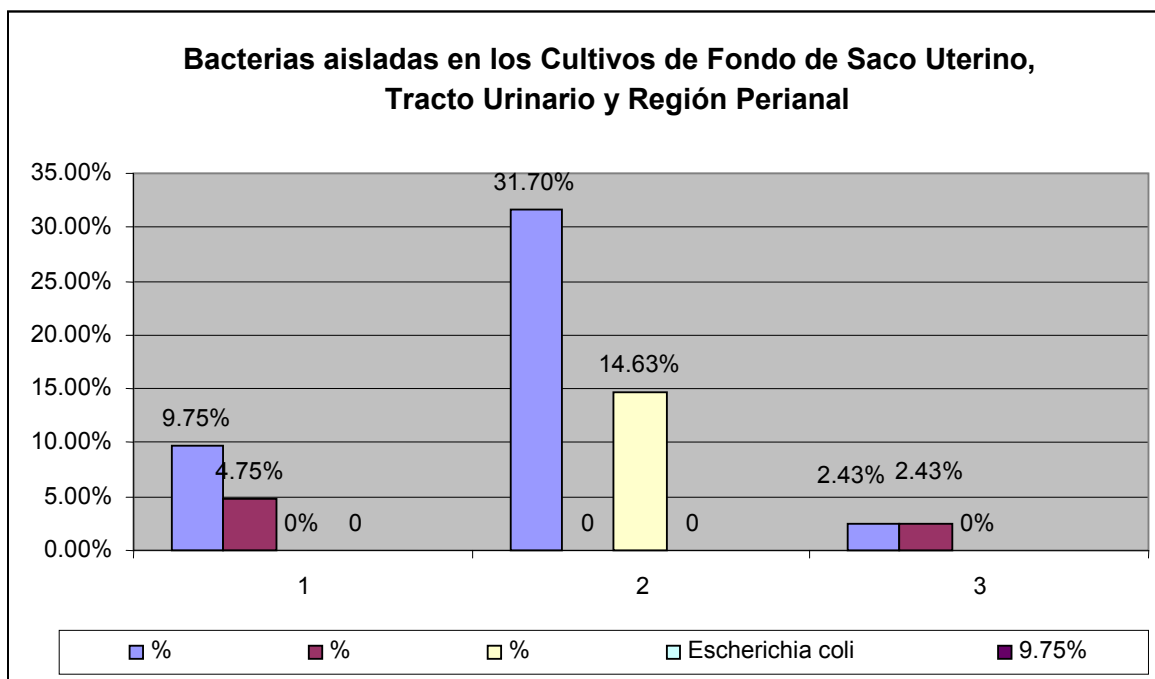
Análisis:

Las bacterias aisladas en saco uterino, tracto urinario y región perianal corresponden en orden ascendente a: **Pseudomona sp**, con un porcentaje de 31.7%; **Escherichia coli** con un 9.75%; **Staphylococcus aureus** con un 2.48% comprobado matemáticamente.

Interpretación:

La bacteria que se encontró colonizando mayormente los sitios anatómicos ,
Pseudomona sp, siendo el fondo de saco uterino quien presenta alta colonización
 bacteriana.

Gráfico 4



Fuente: Tabla 4

Diseños de Bloques al Azar.

Tabla 5

Bacteria	Sitio Anatómico			n	Media	$\sum x$	\sum Media
	Saco	Tracto	Región				
	Uterino	Urinario	Perianal				
Escherichia coli	4	2	0	3	2.0000	6	20
Staphylococcus aureus	1	1	0	3	0.6667	2	2
Streptococcus Pneumoniae	1	0	0	3	0.3333	1	1
Pseudomona sp	13	0	6	3	6.3333	19	205
Streptococcus agalactiae	2	1	1	3	1.3333	4	6
Staphylococcus sp	0	0	2	3	0.6667	2	4
n	6	6	6				
Media	3.50	0.67	1.50				
$\sum x$	21	4	9			34	238

$$sctr = \frac{\sum y_i^2}{r} - \frac{y^2}{tr} = \frac{6^2+2^2 + 1^2+19^2+4^2+2^2}{3} = \frac{442}{3} = \underline{\underline{140.667}} \quad 67$$

$$\frac{y^2}{tr} = \frac{34^2}{18 \cdot 18} = \frac{1156}{18} = \underline{\underline{64.222}}$$

$$140.667 - 64.222 = \underline{\underline{76.445}}$$

$$sdbl = \frac{\sum y_i^2}{t} - \frac{y^2}{tr} = \frac{21^2 + 4^2 + 9^2}{6} - \frac{34^2}{18}$$

$$sdbl = \frac{538}{6} - \frac{1156}{18} = 89.667 - 64.222 = \underline{\underline{25.445}}$$

$$sct = \frac{\sum x^2 y_i^2}{tr} - \frac{y^2}{tr} = \frac{238}{18} - \frac{1156}{18} = \underline{\underline{173.778}}$$

$$scee = sctr - (sctr + sdbl)$$

$$scee = 173.778 - (76.445 + 25.445) \\ = 173.778 - 101.89 = \underline{\underline{71.888}}$$

Análisis de la Varianza

Tabla 6

FV	gl	Sc	cm	FC	0.05	0.01
Tratamiento (Bacteria)	(t-1)(6-1); 5	76.445	15.289	7.0185*	2.49	3.61
Bloque (Sitio)	(r-1)(3-1); 2	25.445	12.723	5.8405*	3.28	5.29
Error	33	71.88	2.1784			
Total	(n-1)(41- 1); 40	173.778				

Prueba de Duncan (Tratamiento) para determinar que bacteria se encuentra mayormente aislada

(Error típico de la diferencia = ETD)

$$1. ETD = t\sqrt{2(cmE)/r} = 5\% = 2.030 \sqrt{2(2.1784)/3} = 2.4464$$

$$= 1\% = 2.724 \sqrt{2(2.1784)/6} = 3.2827$$

2. *Pseudomona* sp = 6.333 ; *E. coli* = 2.0; *St agalactiae* = 1.3333 ;

St aureus = 0.6667; *St pneumoniae* = 0.3333.; *staphylococcus* sp = 0.6667

3.

		2	3	4	5	6
R	5%	1.00	1.05	1.08	1.11	1.13
R	1%	1.00	1.04	1.07	1.09	1.11

4. DMS = (Diferencia Minima Significativa)

	2	3	4	5	6
5%	2.4464	2.5687	2.6421	2.7155	2.7644
1%	3.2827	3.4140	3.5125	3.5781	3.6438

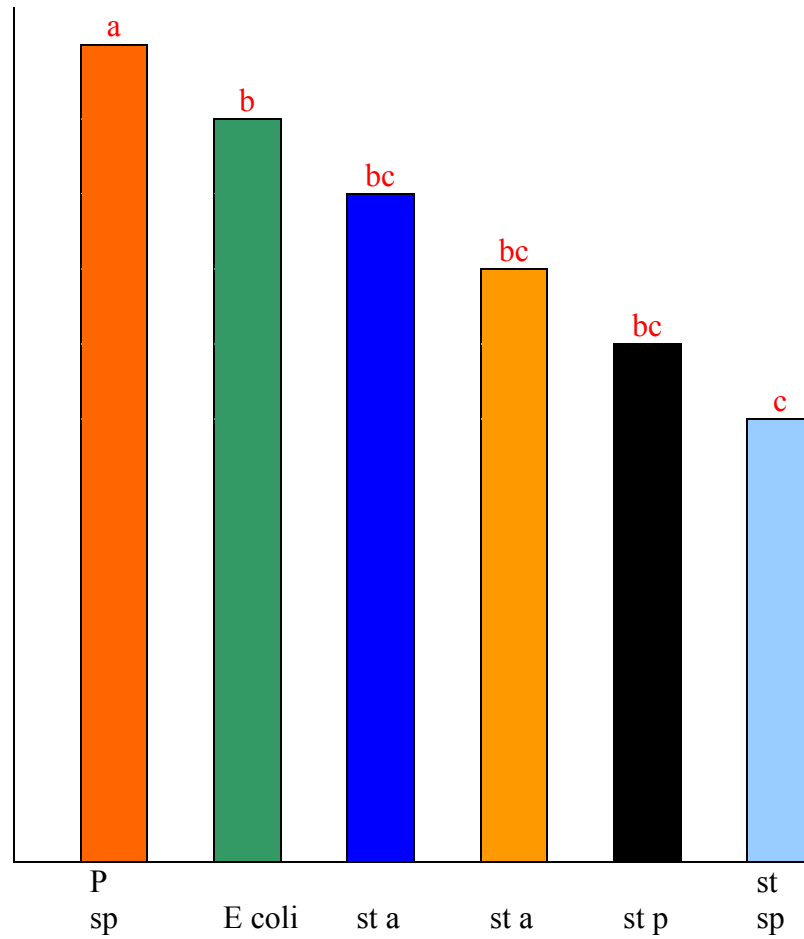
Tabla 7

	Pseudomona sp	Escherichia coli	Streptococcus agalactiae	Staphylococcus aureus	Streptococcus Pneumoniae	Staphy lococcus sp
	6.333	2.00	1.3333	0.6667	0.3333	0.6667
6.333	-----	4.333	5.0	5.6663	5.6663	6.0
2	-----	-----	0.667	1.333	1.333	1.6667
1.333	-----	-----	-----	0.6663	0.6663	1.00
0.6667	-----	-----	-----	-----	0	0.3334
0.6667	-----	-----	-----	-----	-----	0.3334
0.333	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Gráfico por Arreglo

- a = Pseudomona sp**
- b = Escherichia coli**
- bc = Streptococcus agalactiae**
- bc = Streptococcus aureus**
- bc = Streptococcus Pneumoniae**
- c = Staphylococcus sp**

Gráfico 5



Fuente: Tabla 7

Prueba de Duncan (Bloque) para Determinar qué Sitio Anatómico Presenta Mayor Colonización.

1. $ETD = t \sqrt{2(cmC)7r} = 5\% = 2.030; \sqrt{2(2.1784)/6} = \underline{1.9598}$;

$1\% = 2.724 * 0.8521 = 2.3211$

2. **Saco Uterino = 3.5; Región Perianal = 1.5; Tracto Urinario = 0.6667**

3.

		2	3
R	5%	1.00	1.05
R	1%	1.00	1.04

4. MDS

	2	3
5%	1.9598	2.0578
1 %	2.3211	2.4139

Tabla 8

	Saco Uterino	Región Perianal	Tracto Urinario
	3.5	1.5	0.6667

3.5	-----	2.00	2.833
1.5	-----	-----	1.333
0.6667	-----	-----	-----

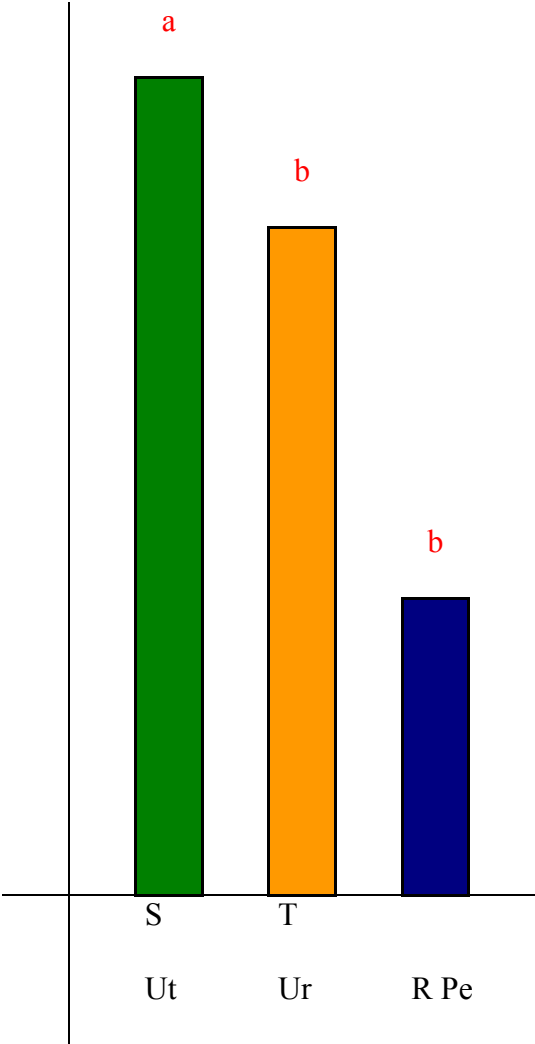
Gráfico por arreglo

a = Saco Uterino

b = Tracto Urinario

b = Región Perianal

Gráfico 6



Fuente: Tabla 8

CAPITULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con el desarrollo de esta investigación realizada bajo todas las normas requeridas, utilizando metodología de investigación científica, estadísticas, técnicas, bacteriológicas y procedimiento hematológicos, los resultados obtenidos en los análisis de las muestras de secreción de fondo de saco uterino tracto urinario y región perianal de mujeres embarazadas, tomándose las muestra de estos sitios anatómicos porque están estrechamente relacionados con el proceso de gestación y parto se concluye:

Se logró aislar dos casos positivos a *Streptococcus B- agalactiae*.

De estos dos se comprobó que una de las gestantes se encontraba contaminada por la bacteria en estudio en fondo de saco uterino y tracto urinario; la otra gestante en fondo de saco uterino y región perianal resulto positivo a dicho microorganismo.

El punto de mayor importancia en la investigación lo constituyen los dos casos positivos a *Streptococcus agalactiae* los cuales representan el 4.88% de la población objeto de estudio este porcentaje no es elevado pero es un indicador de gran importancia de la existencias de infecciones neonatales y perinatales y un factor preocupante de morbimortalidad materna e infantil.

Para el aislamiento de esta bacteria se hizo uso de Agar sangre de carnero al 5% (para poder evidenciar la presencia o ausencia de hemólisis), medio

de Granada este proporcione mayor sensibilidad junto con el caldo Todd-Hewit enriquecido con gentamicina) con estos hallazgos se acepta la hipótesis de trabajo que reza:

Los sitios anatómicos saco uterino, tracto urinario y región perianal de mujeres entre 35 a 37 semanas de gestación se encuentran colonizadas por *Streptococcus agalactiae*, convirtiéndose en un riesgo de infección para el recién nacido, lográndose el aislamiento de este microorganismo en las muestras analizadas.

En los exámenes directos y coloración de Gram se presentaron 5 muestras positivas a vaginosis; 2 por levaduras las que conforman 4.88% y 3 por *Gardnerella vaginales* haciendo un porcentaje de 7.32% de esta forma un desequilibrio en la flora bacteriana la cual puede llegar a ser causa de sepsis neonatal.

A los hijos de las 2 madres que resultaron positivas se les realizaron pruebas hematológicas Hemograma, Recuento de Plaquetas, Proteína “C” reactiva y Eritrosedimentación. Los resultados de estas pruebas fueron negativas.

Lo anterior se consiguió a que las madres recibieron dosis de trimetoprim sulfametoxazol antes del parto.

Recomendaciones

En base a los resultados obtenidos del trabajo de investigación se recomienda:

Al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social:

Proporcionar mayor cobertura de atención en salud, especialmente al servicio de Control Prenatal ya que de este depende en gran medida el bienestar de la madre y el bebé así como la disminución de los casos de morbilidad que ocurren en nuestro medio.

Al Hospital Nacional de Santiago de María:

Implementar la práctica de realización de exámenes directos y coloración de Gram de secreción de fondo de saco uterino para conocer como esta la flora bacteriana en la gestante y de esta manera conocer si existe alguna alteración que ponga en peligro la vida del bebé y de la madre.

Complementar este estudio con los cultivos de secreción de fondo de saco uterino, tracto urinario y región perianal con el objetivo de buscar *Streptococcus agalactiae* principal causante de sepsis neonatal así como de otros microorganismos causantes de múltiples infecciones que traen como consecuencia problemas durante el embarazo; con la realización de estos procedimientos se podrá proporcionar un tratamiento adecuado para evitar posibles complicaciones.

A la población:

Que asista a los controles prenatales y que se practiquen todos los exámenes indicados por el médico para conocer su estado de salud pues de estos depende en gran medida el bienestar suyo y de su bebé.

Al Laboratorio Clínico:

Que sigan brindando un excelente servicio, pues con los resultados de las determinaciones ayudan a proporcionar un buen diagnóstico y por consiguiente un tratamiento adecuado y así evitar complicaciones para la población.

BIBLIOGRAFÍA

LIBROS

BERKOW, robert; H. BREES, Marck; J. FLECTCHER, Andrew. Manual Merck. Sin Edición, Barcelona, España. 1517 Págs.

BERNAL; Jonh Henry. Diagnóstico y Tratamiento por el Laboratorio. 9° Edición. Ediciones Científicas y Técnicas S.A. Barcelona España, 1993. 1509 Págs.

GARNER, Ernest, Gray Dojnald, ORATTILLY, Ronan. Anatomía Humana. 5° Edición, México, SALVAT Editores S.A. de C.V. 1992. 928 Págs.

JAWETZ, Mlenick; ADELBERG. Microbiología Médica. 14° Edición,. México D.F. Editorial EL Manual Moderno S.A. de C.V. 1992. 700 Págs.

KONEMAN; Elmer ALLEN, Stephen; JANDA;: William. Diagnóstico Microbiológico. 5° Edición, Buenos Aires , Argentina, Editorial Médica Panamericana, 2003. 1432 Págs.

MANUAL DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS. 5° Edición, 1097 Págs.

MOSBY. Diccionario Médico. 4° Edición. 1504 Págs.

RUBIN; Emanuel. FARBER, John. Patología. México D.F. Editorial Médica Panamericana, 1990. 1420 Págs.

SALCEDO, Salvador. Tipos de Infección en el Recién Nacido. Barcelona, España, Dayma Libros, 1993. 353 Págs.

SALVAT. Diccionario Tecnológico de Ciencias Médicas, Sección de Lexicología Médica. 11^a Edición, Barcelona, España. Editores SALVAT S.A. Reimpresión 1978. 1552 Págs.

SAMPIERI, Roberto; FERNÁNDEZ, Carlos; BAPTISTA, Pilar. Metodología de la Investigación. 3^a Edición, México Mc Graw Hill Editores.

TORTORA, Grabowski. Principio de Anatomía y Fisiología. Traducido por Rubén Sánchez Monsivais. 9^o Edición, Ofund México S.F. 1175 Págs.

VELEZ, Hernán; ROJAS, William; BORRERO, Jaime; RESTREPO, Jorge. Fundamentos de Medicina. 5^o Edición, Medellín Colombia, 1998. 306 Págs.

VIVES, Joan; AGUILAR, Joseph. Manual de Técnicas de Laboratorio en hematología. 2^o Edición. Barcelona, España, 1997. 653 Págs.

OTRAS FUENTES

BIOMEDICS. “Catálogo de Productos”. Madrid, España. Impresión Bromedics, 2004. Pág. 31 a 40.

FUNDACIÓN DE WAAL. “Servicios de Salud Materna de Buena Calidad”. Revista Prenatal. El Salvador Impresión Tecnográfica, 3ª Edición, 2003.

S.A. “Embarazo”. Documento. (Disponible en **www. Desarrollo humano.com**) Consultada 05/05/06.

S.A. “Infecciones”. Documento (Disponible en **www. monografía.com /infecciones vaginales**). Consultada el 15/04/06.

Streptococcus agalactiae. Control calidad SEIMC. Documento. (Disponible en **www.streptococcus agalactiae.com**) Consultada el 24/02/06.

gStreptococcus agalactiae. Infecciones neonatales. Documentos. (Disponible en **www. streptococcusagalactiae.com**), consultada el 24/02/06.

ANEXOS

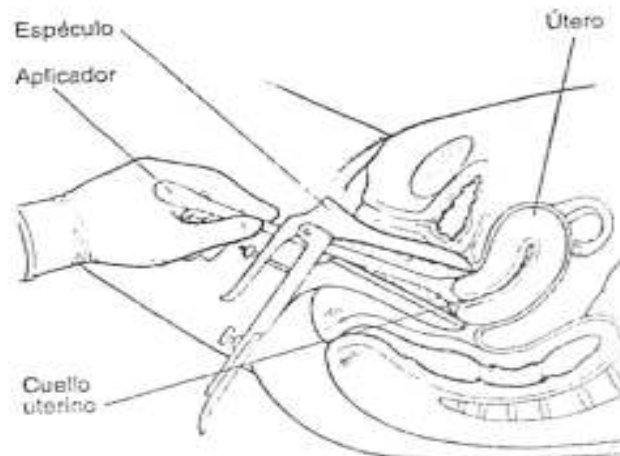
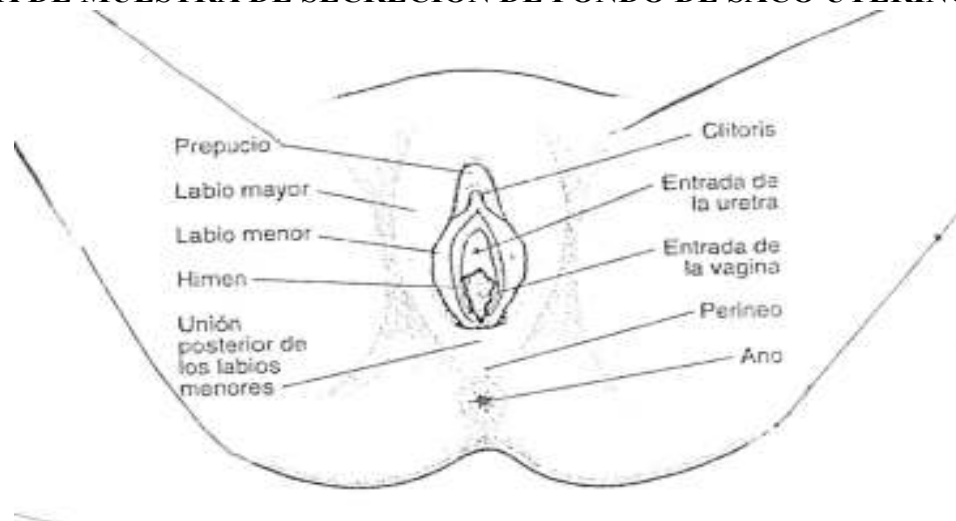
ANEXO No. 2

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES ESPECÍFICAS

Mes de Julio de 2006

Días	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31		
Organización, preparación del área de trabajo.		■	■	■	■	■	■																										
Selección del material de trabajo.					■	■	■																										
Reunión con el ginecólogo y colaboradores										■	■																						
Convocar a la población y realizar entrevistas.			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																			
Toma de muestra																	■	■	■	■	■				■	■	■	■	■				■
Realización de Técnicas de Laboratorio.																	■	■	■	■	■				■	■	■	■	■				■
Lectura de Resultados																	■	■	■	■	■				■	■	■	■	■				■

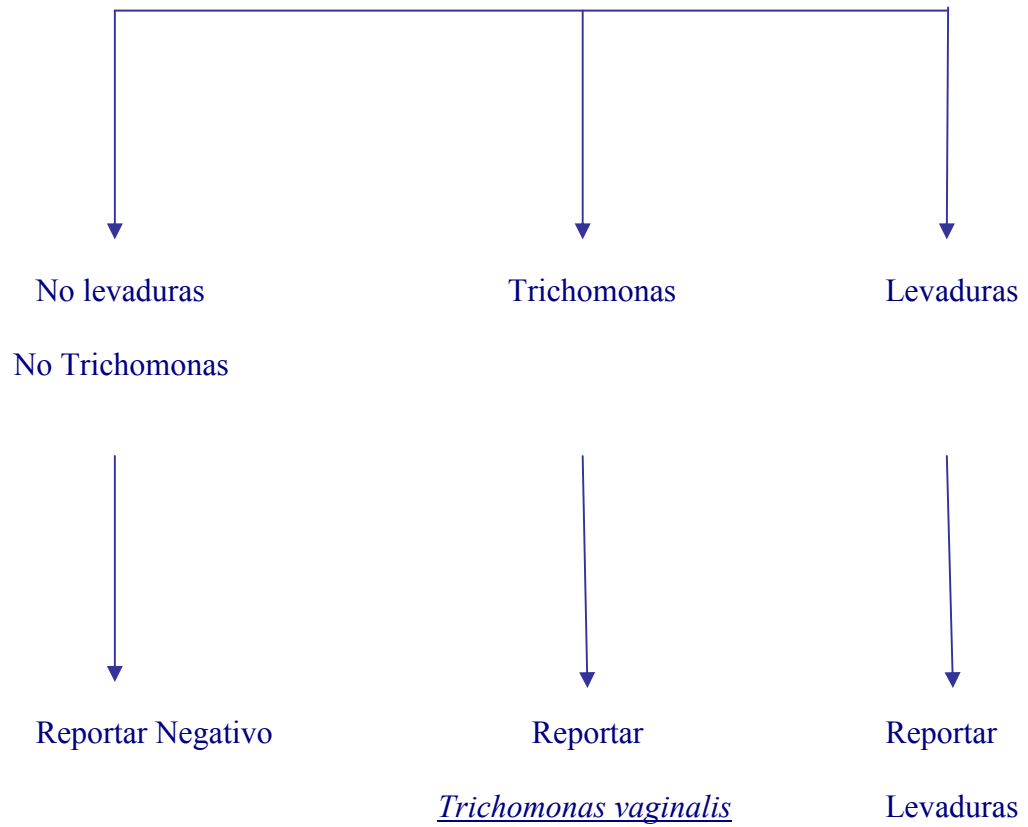
ANEXO No. 5
TOMA DE MUESTRA DE SECRECIÓN DE FONDO DE SACO UTERINO



1. Colocar a la paciente en posición ginecológica.
2. Introducir el espéculo, toma la muestra con hisopos del endocervix y vagina; se recomienda sea tomada por el médico.
3. El hisopo debe estar estéril e impregnado con solución salina fisiológica al 0.85%.

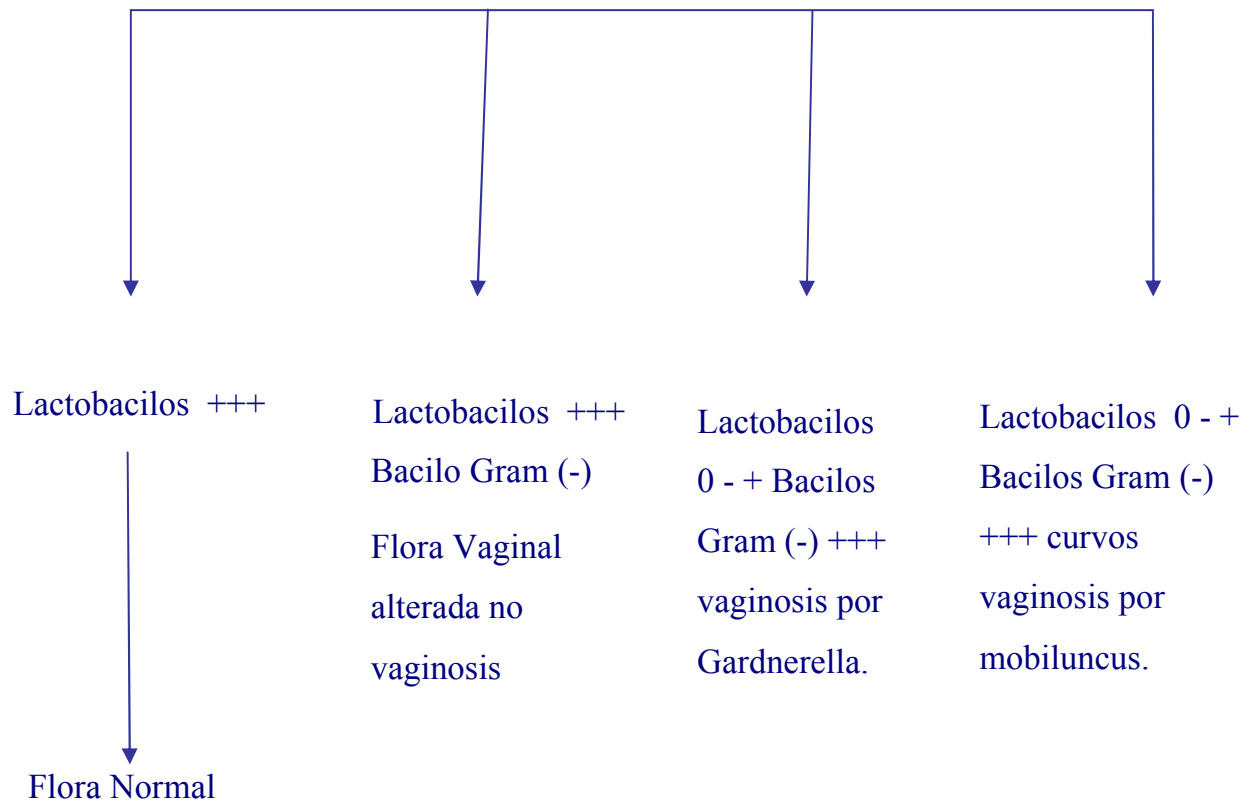
ANEXO No. 6

**EXAMEN DIRECTO CON SOLUCIÓN SALINA DE SECRECIÓN DEL FONDO
DE SACO UTERINO**

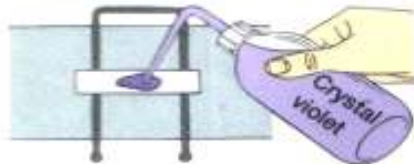


ANEXO No. 7

**EXAMEN DIRECTO CON GRAM DE SECRECIÓN DE FONDO DE SACO
UTERINO**

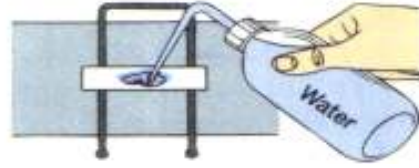


ANEXO No. 8 ESQUEMA DE LA COLORACIÓN GRAM



Paso 1:

Aplicar Cristal Violeta 1 minuto



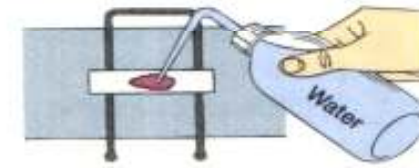
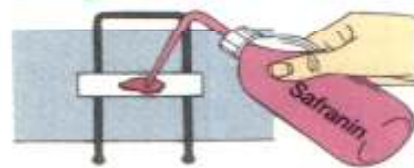
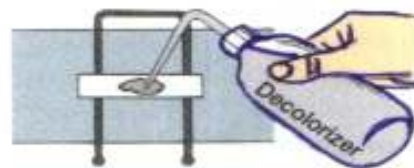
Paso 2:

Lavar con agua



Paso 4:

Lavar con agua



Paso 3:

Aplicar Lugol 1 minuto

Paso 5:

**Decolorar con Alcohol
Acetona de 4 – 5 segundos.**

Paso 6:

Lavar con agua

92

Paso9:

**Dejar secar a temperatura
ambiente**

ANEXO No. 9

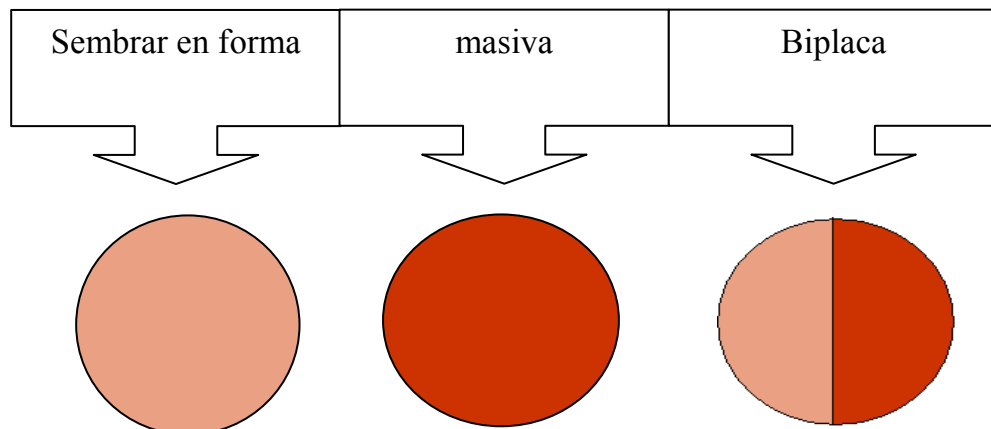
MARCHA BACTERIOLÓGICA PARA UROCULTIVO

Muestra de orina colectada

Al “vuelo”.



1. Agitar.
2. Tomar 0.001 ml con asa calibrada de platino, verticalmente y justamente por debajo de la superficie.



ANEXO No. 10
MARCHA BACTERIOLÓGICA PARA HISOPADO RECTAL



Hisopo con muestra de secreción de región perianal.



Inocular el caldo Todd Hewitt, incubar de 18 A 27 h Temperatura Ambiente

Inocular.
 Medio de Granada, Agar Sangre y Mac Conkey de la suspensión de caldo Todd Hewitt.



Diseminar por el Método de estrías
 Incubar a 36 °C

Seleccionar las colonias que crecieron para realizar otros procedimientos

ANEXO No. 11**PREPARACIÓN DE AGAR SANGRE Y MAC CONKEY**

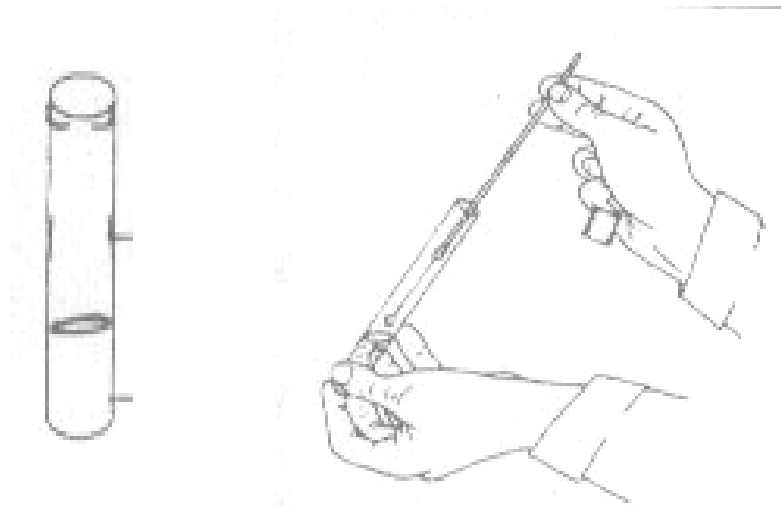
1. Leer las indicaciones para la preparación pues el fabricante especifica la cantidad de gramos necesarios para un litro de agua.
2. Pesarse la cantidad de medio deshidratado necesario para el volumen a preparar
3. Colocar el medio ya pesado en un erlenmeyer.
4. Agregar la cantidad de agua destilada previamente medida.
5. Mezclar bien hasta disolver el medio y evitar que se adhiera al frasco. Tapar y enviar a esterilizar. Calentar al medio evitando que se derrame.
6. Después de esterilizar se dejan enfriar y se vierten los medios en la placa.
7. Para preparar Agar Sangre la temperatura debe ser aproximadamente 50 – 60 °C para agregar la sangre para evitar hemólisis de los glóbulos rojos. Mezclar bien y verter en la placa.

ANEXO No. 12**PREPARACIÓN DE MEDIO GRANADA INSTANTÁNEO**

1. Con una jeringa medir 3 ml de agua destilada estéril.
2. Abrir el tubo que contiene el medio con polvo.
3. Añadir los 3 ml de agua destilada al tubo que contiene el medio.
4. Cerrar el tubo e inmediatamente sujetar el tubo con el dedo pulgar en el fondo y el índice en el tapón e inmediatamente agitar vigorosamente hasta que el polvo y el agua queden bien mezclados.
5. Sujetar el tubo por el tapón con el pulgar y el índice y sacudir un par de veces para arrastrar el medio que haya quedado pegado en la pared y al fondo del tubo.
Luego proceder a inocular.

ANEXO No. 13**INOCULACIÓN DEL CALDO TODD – HEWITT**

1. En un tubo estéril colocar 2.5 ml de caldo todd – Hewitt.
2. Introducir el hisopo con la muestra y sacudirlo, sacar el hisopo y encubarlo durante 18 horas a 24 horas a temperatura ambiente.
3. Después de pasado este tiempo proceder a subcultivar en los medios de cultivo.



ANEXO No. 14**PRUEBA DE CAMP****Procedimiento**

1. Debe utilizarse Agar Sangre de carnero al 5%. En una caja de este medio hacer con el asa en argolla una estría recta a lo largo de toda la caja con una cepa de *Staphylococcus aureus* productor de doble zona de Beta hemólisis.
2. Luego hacer una estría con el estreptococo beta hemolítico a identificar, perpendicular a la estría de *Staphylococcus aureus* pero que no la toque.
3. Inocular en atmósfera ambiental de 18 – 24 horas a 36 °C.



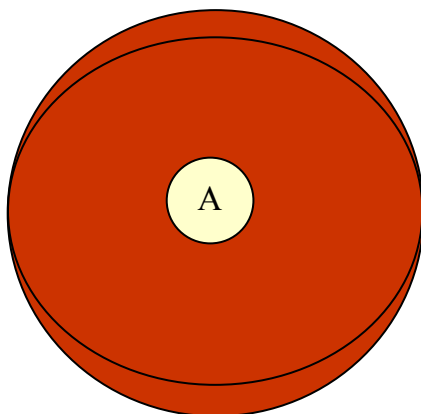
A



B

ANEXO No. 15**PROCEDIMIENTO PARA LA PRUEBA DE LA BACITRACINA**

1. Tomar la muestra con un asa, dependiendo las colonias en estudio e inocular una placa de Agar Sangre de carnero al 5% en 3 direcciones opuestas.
2. Colocar el disco taxo "A" al centro de la placa ya inoculada.
3. Inocular a 36 ± 1 °C por 18 – 24 horas en ausencia de CO₂



ANEXO No. 16

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA.
GUÍA DE ENTREVISTA DIRIGIDA A LA POBLACIÓN OBJETO DE
ESTUDIO.**

Objetivo: Recolectar información sobre el estado de salud de las mujeres en estado gestacional.

Datos Personales:

Nombre: _____

Edad: _____ Años _____

Dirección: _____

Estado Civil:
S C A otros

Ocupación: _____

1. Número de embarazos que ha tenido.

1 2 3 4 más de 4

A término:
Vivos Muertos Abortos

2. Durante el embarazo asistió al control prenatal regularmente:

Sí _____ No _____

3. Si su respuesta es negativa, cual fue la razón por la cual no asistió a sus controles:

4. Sus partos fueron atendidos en el Hospital:

Sí _____ No _____

5. Si su respuesta es negativa por que razón no fue atendida en el Hospital:

6. Ha tenido niños prematuros:

Sí _____ No _____

7. Cuando asiste a sus controles y el médico ha indicado exámenes se los ha realizado:

Sí _____ No _____

8. Si su respuesta es negativa por qué no se los ha realizado: _____

9. Sabe que es una infección vaginal:

Sí _____ No _____

10. Si su respuesta es afirmativa describa que es una infección vaginal:

11. Ha padecido de infecciones vaginales antes y durante el embarazo.

Sí _____ No _____

12. Si su respuesta es afirmativa, utilizó algún tratamiento para tratarla:

Sí _____ No _____

13. Si su respuesta es negativa por qué motivo no se aplicó o dejó de aplicarse el

tratamiento: _____

ANEXO No. 17**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA.****GUÍA DE CONTROL DE LABORATORIO APLICADA A LA POBLACIÓN****OBJETO DE ESTUDIO.**

Objetivo: Interpretar la información obtenida en los procedimientos realizados y de acuerdo a los resultados con ayuda del médico establecer un diagnóstico y proporcionarles tratamiento adecuado.

Datos Generales

Nombre: _____

Edad: _____ Años _____

Fecha de toma de Muestra: _____

Responsable de la toma de muestra: _____

Responsable de la siembra de la muestra: _____

1. Examen directo al fresco: _____

2. Tinción de Gram: _____

3. Resultados obtenidos en el cultivo de secreción de saco uterino:

Agar Sangre : _____

Mac Conkey : _____

Medio de Granada: _____

4. Resultados obtenidos en el cultivo de orina:

Agar Sangre : _____

Mac Conkey : _____

Medio de Granada: _____

5. Resultados obtenidos en cultivos de secreción perianal:

Agar Sangre : _____

MacConkey : _____

Medio de Granada: _____

6. Prueba de la Bacitracina: _____

7. Prueba de CAMP: _____

ANEXO No. 18
AREA DE BACTERIOLOGIA.



ANEXO No. 19
TOMA DE MUESTRA DE FONDO DE SACO



ANEXO No. 20

SIEMBRA DE SECRESIONES



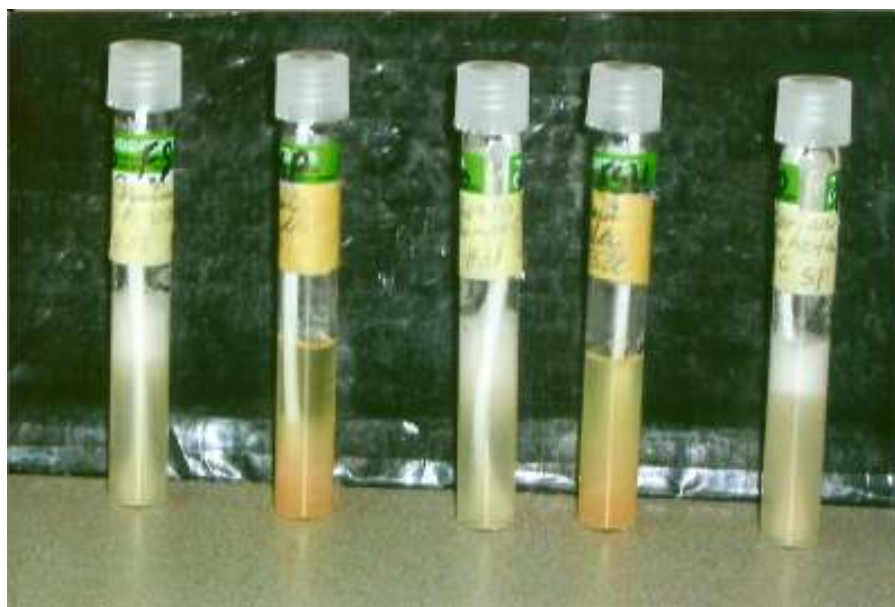
ANEXO No. 21

MUESTRAS EN INCUBACION.



ANEXO No. 22

RESULTADOS POSITIVOS EN MEDIO DE GRANADA



ANEXO No 23

Streptococcus agalactiae EN TSA Y AGAR SANGRE

