



FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

VALIDACIÓN DE CAMP MODIFICADOS PARA LA DETECCIÓN DE
STREPTOCOCCUS AGALACTIAE, HOSPITAL MATERNO INFANTIL, LIMA 2024

Línea de investigación

Microbiología, Parasitología e Inmunología

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado Tecnólogo Médico en
Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

Autora

Alvarado Alderete, Guianela

Asesora

Astete Medrano, Delia Jessica

Código ORCID 0000-0001-5667-7369

Jurado

Suarez Obregon, Evert Segundo

Rivas Cardenas, Arturo Alexander

Calderon Cumpa, Luis Yuri

Lima - Perú

2025



"VALIDACIÓN DE CAMP MODIFICADOS PARA LA DETECCIÓN DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE, HOSPITAL MATERNO INFANTIL, LIMA 2024.".docx

INFORME DE ORIGINALIDAD

25%

INDICE DE SIMILITUD

24%

FUENTES DE INTERNET

6%

PUBLICACIONES

8%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	3%
2	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	1%
3	aprenderly.com Fuente de Internet	1%
4	idoc.pub Fuente de Internet	1%
5	scielo.sld.cu Fuente de Internet	1%
6	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	www.jovenesenlaciencia.ugto.mx Fuente de Internet	1%
8	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	1%



FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

VALIDACIÓN DE CAMP MODIFICADOS PARA LA DETECCIÓN DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE, HOSPITAL MATERNO INFANTIL, LIMA 2024.

**Líneas de investigación: Microbiología, Parasitología e
Inmunología**

**Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado Tecnólogo Médico en
Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica**

Autor(a):

Alvarado Alderete, Guianela

Asesor(a):

Astete Medrano, Delia Jessica

ORCID: 0000-0001-5667-7369

Jurado:

Suarez Obregon, Evert Segundo

Rivas Cardenas, Arturo Alexander

Calderon Cumpa, Luis Yuri

**Lima -Perú
2025**

Dedicatoria

Para mi papá y mamá, quienes fueron los impulsores de realizar este proyecto, gracias por todo el cariño y apoyo en este objetivo.

Para mis hermanos, que siguen llenando de amor y alegría mi vida.

Agradecimientos

A Dios, por ser la guía divina en este proyecto y darme las fuerzas para no decaer en el proceso.

A mi familia, por su apoyo, comprensión, cariño y ser mis compañeros en esta meta propuesta. Este y cada uno de mis logros, también es de ustedes.

A la Dra. Delia Jessica Astete Medrano, por compartir su amplia experiencia y aporte para la culminación de este proyecto.

Al Mg. Javier Orlando Soto Pastrana, por confiar en mí, y convertir esta idea en un proyecto realizado, sin su apoyo incondicional y dirección, este trabajo no sería posible.

Al equipo del Laboratorio de microbiología del Hospital San Bartolomé, por brindarme las facilidades de ejecutar este proyecto.

Índice

Resumen.....	IX
Abstract.....	X
I. Introducción	1
1.1. Descripción y formulación del problema	2
1.2. Antecedentes	6
1.3. Objetivos.....	13
- Objetivo general.....	13
- Objetivos específicos.....	13
1.4. Justificación.....	14
II. Marco teórico	16
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	16
III. Método.....	47
3.1. Tipo de investigación.....	47
3.2. Ámbito temporal y espacial.....	48
3.3. Variables.....	48
3.4. Población y muestra.....	49
3.5. Instrumentos.....	49
3.6. Procedimientos.....	49
3.7. Análisis de datos.....	55
3.8 Consideraciones éticas.....	56
IV. Resultados.....	57

V. Discusión de resultados.....	64
VI. Conclusiones.....	68
VII. Recomendaciones.....	69
VIII.Referencias.....	70
IX. Anexos.....	77

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Frecuencias entre el CAMP estándar y el CAMP Disk en la detección de <i>Streptococcus agalactiae</i> de orina procesados en un Hospital Materno Infantil, Lima, 2024.....	57
Tabla 2. Frecuencias entre el CAMP estándar y el CAMP Strip en la detección de <i>Streptococcus agalactiae</i> de orina procesados en un Hospital Materno Infantil, Lima, 2024.....	59
Tabla 3. Frecuencias entre el CAMP estándar y el Spot CAMP en la detección de <i>Streptococcus agalactiae</i> de orina procesados en un Hospital Materno Infantil, Lima, 2024.....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura.1 Interpretaciones del disco bacitracina/SXT.....	26
Figura.2 Moléculas de fosfolípidos.....	32
Figura.3 La esfingomielina.....	33
Figura.4 Los fosfoglicéridos.....	33
Figura.5 Estructura de la membrana del hematíe.....	35
Figura.6 Proporciones de Lecitina: Esfingomielina de diversos animales.....	36
Figura.7 Reacción de CAMP estándar.....	39
Figura.8 Reacción de CAMP Disk.....	41
Figura.9 Reacción de Strip CAMP.....	44
Figura.10 Reacción de Spot CAMP.....	46
Figura.11 Método de CAMP Disk.....	52
Figura.12 Método de Strip CAMP.....	53
Figura.13 Método de Spot CAMP.....	54
Figura.14 Frecuencias entre el CAMP estándar y el CAMP Disk en la detección de <i>Streptococcus agalactiae</i> de orina procesados en un Hospital Materno Infantil, Lima, 2024.....	57
Figura.15 Frecuencias entre el CAMP estándar y el CAMP Strip en la detección de <i>Streptococcus agalactiae</i> de orina procesados en un Hospital Materno Infantil, Lima, 2024.....	59

Figura.16 Frecuencias entre el CAMP estándar y el Spot CAMP en la detección de *Streptococcus agalactiae* de orina procesados en un Hospital Materno Infantil, Lima,

2024..... 61

RESUMEN

Objetivo: Determinar la validez diagnóstica de métodos de CAMP modificados para la detección de *Streptococcus agalactiae* aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno- Infantil, Lima 2024. **Método:** Se realizó un estudio observacional, descriptivo de diseño no experimental prospectivo y de corte transversal. Se incluyeron 52 cepas de *Streptococcus agalactiae*; 17 cepas de *Enterococcus* entre *faecalis*, *faecium* y *avium*; 1 cepa de *Streptococcus dysgalactiae* aislados de muestras de orina, sangre y secreción provenientes de una población adulta atendidas en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, identificadas por el equipo Vitek 2 Compact (BioMérieux). Los métodos de CAMP modificados evaluados fueron: CAMP Disk, Strip CAMP y Spot CAMP comparados con el método de referencia CAMP estándar. **Resultados:** La prueba de CAMP Disk obtuvo una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de 100% en cada uno de los parámetros estadísticos. Se obtuvo un mismo resultado en los cuatro parámetros al evaluar la Prueba de Strip CAMP y Spot CAMP. Asimismo, la concordancia de kappa entre los métodos de CAMP modificados con respecto al método de referencia fue de 1. Los resultados manifiestan buen desempeño de los métodos modificados. **Conclusiones:** Los métodos de CAMP modificados presentaron una muy buena concordancia para la detección de *Streptococcus agalactiae*. Se recomienda la implementación de los métodos de CAMP modificados a la rutina de los Laboratorios de Microbiología como alternativa para la detección de *Streptococcus agalactiae*.

Palabras clave: *Streptococcus agalactiae*, método de CAMP, factor CAMP, infecciones del tracto urinario.

ABSTRACT

Objective: To determine the diagnostic validity of modified CAMP methods for the detection of *Streptococcus agalactiae* isolated from urine from patients treated at a Maternal-Child Hospital, Lima 2024. **Method:** An observational, descriptive, non-experimental, prospective, cross-sectional study was conducted. 52 strains of *Streptococcus agalactiae* were included; 17 strains of *Enterococcus* including *faecalis*, *faecium*, and *avium*; 1 strain of *Streptococcus dysgalactiae* isolated from urine, blood, and secretion samples from an adult population treated at the San Bartolome Hospital, identified by the Vitek 2 Compact equipment (BioMérieux). The modified CAMP methods evaluated were: CAMP Disk, Strip CAMP, and Spot CAMP compared to the standard CAMP reference method. **Results:** The CAMP Disk test obtained a sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) of 100% in each of the statistical parameters. The same result was obtained in the four parameters when evaluating the CAMP Strip Test and CAMP Spot. Likewise, the kappa agreement between the modified CAMP methods with respect to the reference method was 1. The results show good performance of the modified methods. **Conclusions:** The modified CAMP methods presented a very good agreement for the detection of *Streptococcus agalactiae*. The implementation of the modified CAMP methods in the routine of Microbiology Laboratories is recommended as an alternative for the detection of *Streptococcus agalactiae*.

Keywords: *Streptococcus agalactiae*, CAMP method, CAMP factor, urinary tract infections.

I. INTRODUCCIÓN

Streptococcus agalactiae, también conocido como estreptococo beta-hemolítico del grupo B de Lancefield (SGB), considerado uno de los principales agentes patógenos causantes de sepsis neonatal precoz, complicaciones perinatales en mujeres embarazadas y complicaciones en adultos mayores con comorbilidades. (Pulido y Soto, 2022)

El estreptococo betahemolítico del grupo B (EGB) es una bacteria Gram positiva que suele encontrarse en el tracto gastrointestinal. Desde allí la bacteria coloniza intermitentemente el tracto genital, el tracto genitourinario y menos frecuentemente coloniza la faringe. Este tipo de bacteria puede transmitirse a los recién nacidos durante el embarazo, por lo que son importantes las medidas preventivas. (Arnold y Valdés, 2023)

Normalmente, la colonización materna es asintomática y tiene tasas de prevalencia variables en todo el mundo, que oscilan entre el 5% y el 30%. Las mujeres embarazadas colonizadas pueden transmitir este microorganismo a sus hijos, lo que conduce al desarrollo de una infección neonatal precoz en el 1 al 2% de los recién nacidos. (Campo et al., 2019)

Por ello, directrices internacionales recomiendan realizar pruebas de detección del EGB mediante frotis anales y vaginales entre las semanas 35 y 37 del embarazo, consiste en realizar cultivo microbiológico de la muestra, la finalidad es prevenir las enfermedades perinatales causadas por el microorganismo. (Pulido y Soto, 2019)

En Perú, la investigación sobre SGB se ha centrado en mujeres embarazadas portadoras, siendo la muestra ideal la vagino-rectal, aunque puede detectarse por otros medios como la orina. El aislamiento de EGB en cultivos de orina, independientemente del recuento o de la fase del embarazo, debe considerarse un factor determinante para la profilaxis intraparto, sin necesidad de realizar un cribado en las semanas 35-37. Ante lo mencionado, la detección de EGB en etapas

tempranas previene y sugiere una profilaxis oportuna. (Pulido y Soto, 2019)

El diagnóstico situacional de los métodos de detección de *Streptococcus agalactiae* son diversos desde medios no selectivos usualmente como Agar Sangre de Carnero 5% y Chromagar, hasta más complejos. Se resalta la Prueba de CAMP, utilizado como método presuntivo, se fundamenta en la producción de una sustancia (factor CAMP) que amplía la zona de hemólisis provocada por el *Staphylococcus aureus* a fin de identificar el microorganismo. (Filkins et al., 2021)

1.1 Descripción y formulación del problema

1.1.1 Descripción del problema

El *Streptococcus agalactiae*, conocido comúnmente como estreptococo del grupo B (EGB), es un tipo de bacteria Gram positiva que reside en los tractos gastrointestinal y genitourinario. El EGB es considerado patógeno cuando llega a colonizar el tracto genital de las gestantes, por ello se realizan cultivos para su detección en cada embarazo y prestando la atención debida ya que la colonización puede ser temporal. La OMS (Organización mundial de salud), reconoce la infección por estreptococo del grupo B como un problema de salud mucho más grave de lo que se pensaba anteriormente. Está asociada con más de medio millón de nacimientos prematuros cada año y causa casi 100,000 muertes de bebés recién nacidos, al menos 46,000 muertes fetales y una discapacidad a largo plazo significativa. (Organización mundial de la salud [OMS],2021)

Según la CDC (Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades), ante un resultado positivo de EGB detectado en cultivo de orina de gestante, en cualquier trimestre del embarazo actual, o mujeres que tuvieron un bebé con enfermedad grave causada por *Streptococcus agalactiae* no requieren realizarse pruebas de detección durante el embarazo, en lugar de ello, se les administrará profilaxis durante el parto. Además, mujeres con infección urinaria por estreptococo

del grupo B, con o sin síntomas, durante el embarazo deben recibir tratamiento para la infección urinaria y también tratamiento antibiótico durante el parto para prevenir enfermedades graves en el recién nacido. Así también, se consideran otras circunstancias para la aplicación de profilaxis antibiótica intraparto (Verani et al., 2010)

En la actualidad, se estima que los factores de riesgo de aparición precoz de la enfermedad por EGB son la maternidad a temprana edad, ascendencia afroamericana, el parto prematuro (menos de 37 semanas), la fiebre materna durante el parto (más de 36°C o 100,4°F) y la rotura prolongada de membranas (mayor de 18 horas). (Morgan et al., 2023)

En Estados Unidos, el EGB tiene suma importancia debido a ser la causa más frecuente de morbilidad y mortalidad en recién nacidos. (Morgan et al., 2023)

Aunque el EGB es responsable de infecciones de aparición temprana y tardía en los lactantes, las intervenciones actuales sólo previenen eficazmente la enfermedad de aparición temprana. Las infecciones por EGB de inicio precoz se producen en la primera semana de vida, mientras que la enfermedad de inicio tardío se produce después de la primera semana de vida. (Le Doare y Heath, 2013)

En el Perú, se realizó estudios acerca del incremento de casos de *Streptococcus agalactiae* reportados en un hospital Materno-Infantil. Se reportó que, a partir de 2010, se produjo un aumento significativo del número de aislados de EGB recuperados de cultivos de orina. En 2010, el EGB era el sexto patógeno urinario más frecuentemente aislado, con un 1,6% de los casos. Sin embargo, en 2018, había aumentado hasta convertirse en el tercer patógeno más frecuentemente aislado, representando el 5,6% de los casos. (Nauto, 2019)

La American Society for Microbiology (Sociedad Americana de Microbiología), nos brinda directrices para la detección e identificación de EGB, entre ellas la evaluación de urocultivo

en gestantes que al detectar EGB en concentraciones $\geq 100\ 000$ UFC/ml en pacientes sintomáticas o asintomáticas reciban un tratamiento profiláctico, pero los casos de recuento menor a 100 000 UFC/ml se correlacionan con colonización ano genital, mayor riesgo de colonización intraparto y mayor riesgo de enfermedad de aparición temprana neonatal entonces si bien no se recomienda tratamiento en un recuento bajo de bacteriuria asintomática por EGB, cualquier cantidad es una indicación para la profilaxis intraparto. Pero, tener en cuenta que esta última acotación solo aplica para gestantes. (Filkins,2021)

En la actualidad, recomiendan realizar un cultivo de orina provenientes de gestantes que se encuentran en su última semana del 1er trimestre o inicios del segundo trimestre para detección de probable bacteriuria asintomática.

Se emplea métodos fenotípicos para la identificación de esta bacteria. Entre ellos, resaltamos el método de CAMP (Christie, Atkins y Munch-Petersen) ya que permite identificar el estreptococo del grupo B, se basa en la producción de una sustancia (factor CAMP) que amplía la zona de hemólisis provocada por el *Staphylococcus aureus*.

En la actualidad, el método de CAMP sigue siendo una práctica aceptable, aunque los resultados obtenidos presentan un tiempo de demora debido a una incubación aeróbica adicional de 18 a 24 horas para observar la producción del factor CAMP.

Por ello, se realizará una evaluación a los métodos modificados de CAMP que suponen mejorar limitaciones particulares del método como el tiempo de identificación y requerimiento de una cepa ATCC de *Staphylococcus aureus*.

Ante esta problemática sobre la identificación del EGB mediante el método de CAMP. Nos planteamos el siguiente problema de investigación:

1.1.2 *Formulación del problema*

1.1.2.1 Problema general.

¿Cuál es la validación de métodos de CAMP modificados para la detección de *Streptococcus agalactiae*, aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno- Infantil, Lima 2024?

1.1.2.2 Problemas específicos.

¿Cuál es la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de CAMP Disk Test, en comparación con el método de CAMP estándar, para la detección de *Streptococcus agalactiae* aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno Infantil, Lima 2024?

¿Cuál es la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de CAMP Strip Test, en comparación con el método de CAMP estándar, para la detección de *Streptococcus agalactiae* aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno Infantil, Lima 2024?

¿Cuánto es la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de Spot CAMP Test, en comparación con el método de CAMP estándar, para la detección de *Streptococcus agalactiae* aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno Infantil, Lima 2024?

1.2 Antecedentes

1.2.1 Antecedentes internacionales

Moreno et al. (2023) en su investigación titulada “Aislamiento e identificación de *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas. Comparación de dos métodos de laboratorio”. El objetivo fue comparar la capacidad de identificación de SGB entre un método cromogénico y la prueba de CAMP. La metodología aplicada fue un estudio observacional, transversal y analítico en mujeres embarazadas que cursaban el tercer trimestre. La muestra estuvo conformada por 69 mujeres embarazadas en el periodo del tercer trimestre. Se procedió a obtener las 69 muestras de hisopado vaginal y región ano-rectal de pacientes sospechosas, luego de ser llevadas al laboratorio, se inocularon en un caldo de enriquecimiento Todd-Hewitt incubado a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas en condiciones capnofílicas. Posteriormente, se cultivó en medio cromogénico (Strep B, CHROMagar™) y un medio de agar sangre, fueron incubadas en condiciones estándar por 24 horas. Las colonias obtenidas del agar sangre que sean betahemolíticas fueron subcultivadas en agar sangre para realizar la prueba de CAMP. Asimismo, se les realizó la prueba de Kirby-Bauer (susceptibilidad a los antimicrobianos) a los microorganismos identificados como *Streptococcus agalactiae*. Los resultados mostraron que el método sugerido es el cromogénico debido a que fue capaz de detectar en 7 de 69 pacientes embarazadas, mientras que la Prueba de CAMP no logró detectar ninguna. Se estima que el método cromogénico tuvo una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo del 100% cada una de ellas. Por otro lado, el método de CAMP tuvo una sensibilidad de 0%, especificidad de 100%, VPP de 0%, VPN de 89%. Respecto al método de Kirby-Bauer, la tasa de resistencia a ampicilina fue de 2 (28.6%) y la resistencia a eritromicina fue de 2 (28.6%). Las limitaciones del trabajo fue no realizar una confirmación con pruebas de análisis molecular ni de serotipificación, a fin de evaluar si las

pacientes colonizadas no presentan el Factor CAMP. En conclusión, el método cromogénico resulto ser el adecuado para una detección de *Streptococcus agalactiae*.

Zhou et al. (2023) en su investigación titulada “Analysis of molecular characteristics of CAMP- negative *Streptococcus agalactiae* strains”. El objetivo de estudio fue evaluar la causa de falsos negativos del método de CAMP estándar para la detección de *Streptococcus* del grupo B. El estudio realizado fue con una muestra de 1.391 hisopos vaginales y rectales de mujeres embarazadas entre las semanas 35 y 37 de gestación entre abril de 2020 y marzo 2021 en el Hospital General Pingshan de la Universidad Médica del Sur. El método de estudio fue inocular en un caldo de enriquecimiento selectivo, luego incubarlo durante 18 a 24 h a 35 a 37 °C en CO₂ al 5%. Luego, las muestras se subcultivaron en agar cromogénico de *Streptococcus* grupo B por 24 horas. Se seleccionan las colonias moradas identificadas como sospechosas para ser nuevamente cultivada en agar sangre de oveja al 5% por 24 horas.

Asimismo, los aislamientos sospechosos se identificaron inicialmente utilizando el VITEK- 2 sistema de identificación automática (BioMérieux, Francia) y confirmado por MALDI-TOF MS (BioMérieux, Francia). Por otra parte, se tomó de la incubación del caldo de enriquecimiento selectivo para realizar la Prueba de CAMP, Secuenciación del gen 16S rDNA y *cfb*, Tipificación de secuencia multilocus y Pruebas de susceptibilidad a los antibióticos. Los resultados indicaron que, de las 190 cepas, 15 se identificaron como CAMP negativas. El análisis posterior fue realizar la secuencia del gen 16S ADNr confirmando que estas 15 cepas eran *Streptococcus agalactiae*. El ensayo de tipificación MLST reveló que estas 15 cepas pertenecían al tipo ST862. Se amplificó el gen *cfb* y se sometió a electroforesis, pero no se encontraron fragmentos específicos, lo que indica que estas cepas carecen del factor CAMP debido a la delección del gen *cfb*. Las pruebas de sensibilidad a los antibióticos no mostraron resistencia a la penicilina,

ampicilina, vancomicina y linezolid entre las cepas SGB. Sin embargo, había diferencias significativas en las tasas de resistencia a la tetraciclina. Por tanto, el estudio determinó que el 7.9% de las cepas de *Streptococcus agalactiae* estudiadas eran CAMP negativas. Esto sugiere que el método de prueba CAMP o los cebadores dirigidos al gen *cfb* no deben utilizarse como única prueba presuntiva para la identificación del GBS.

Arnold y Valdés (2023) en su investigación titulada “Colonización genitourinaria por *Streptococcus agalactiae* y perfil”. El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* en muestras cervicovaginales de gestantes entre 35 y 37 semanas, así como en urocultivos de gestantes de cualquier edad gestacional ingresadas en el hospital ginecobstétrico provincial. El estudio, realizado entre enero y agosto de 2021 en el Hospital Ginecobstétrico Docente Provincial José Ramón López Tabrane de la ciudad de Matanzas, fue de carácter observacional, descriptivo, exploratorio y transversal. Los resultados revelaron que el 18,61% de las participantes tenían cultivos positivos para *Streptococcus agalactiae*. La presencia de positividad se encontró predominantemente en mujeres embarazadas no diabéticas, con una tasa del 18,75% de urocultivos positivos. Los aislados mostraron un predominio de la sensibilidad a la eritromicina y la clindamicina, con un 63%, seguidos de la resistencia inducible a la clindamicina (MLS_{Bi}), con un 19%. Concluyendo que este estudio confirma que el diagnóstico microbiológico de *Streptococcus agalactiae* en las embarazadas es sumamente importante para la prevención de la sepsis puerperal y neonatal. Aunque los resultados de este estudio indican perfiles de sensibilidad adecuados, un seguimiento continuo garantizaría la detección precoz de cepas resistentes, teniendo en cuenta el ligero aumento del fenotipo identificado (MLS_{Bi}).

Guo et al. (2019) en su investigación titulada “Is a positive Christie-Atkinson-Munch Peterson (CAMP) test sensitive enough for the identification of *Streptococcus agalactiae*?”. El objetivo del estudio fue evaluar la utilidad de la Prueba CAMP para la detección de *Streptococcus agalactiae*. El método empleado se dio mediante la evaluación de 5 aislamientos sospechosos de *Streptococcus agalactiae* obtenido de 2 diferentes hospitales como CAMP negativo. Pero, verificado como *Streptococcus* (Gram positivos y catalasa negativo). En 3 lotes de placas de 2 diferentes fabricantes e identificados mediante el Sistema Phoenix, MALDI TOF MS, ensayo de PCR y secuenciación del gen 16s rDNA. Los resultados obtenidos indicaron que las 5 cepas en sospecha eran *Streptococcus agalactiae* contrastando las 4 cepas CAMP negativo y 1 no detectada por PCR. Se concluye que los métodos de presunción y apoyo como Prueba de CAMP carece de sensibilidad en ciertas ocasiones, mientras que se pone en cuestión si el gen *cfb*, encargado de codificar el factor CAMP, pueda ser atacado debería darse mayor investigación.

Zárate et al. (2005) en su investigación titulada “Modified Spot CAMP Test: A rapid, inexpensive”. Tuvo como objetivo comparar una prueba CAMP puntual modificada rápida con la prueba CAMP estándar descrita por Christie et al. Asimismo, se aplicó un esquema de identificación bioquímica y confirmación serológica. Utilizados como método de referencia. El estudio realizado fue con 183 aislados clínicos de estreptococos β -hemolíticos (45 del grupo B, 6 del grupo C, 6 del grupo G y 126 del grupo A) detectados por métodos convencionales y serológico de Lancefield. Los resultados revelaron que todos los aislamientos de *S. agalactiae* fueron positivos por la prueba spot CAMP modificado y prueba CAMP estándar comprobando una sensibilidad 100% para ambos métodos. Por otra parte, la especificidad de Spot CAMP modificado fue de 96,8% debido a la detección de 4 *Streptococcus pyogenes* con resultados positivos para este método y el método CAMP estándar tuvo 14 resultados positivos de *Streptococcus pyogenes*, por

tanto, la especificidad del método fue 88,9%. La conclusión es la efectividad del método Spot CAMP modificado debido a la sensibilidad y especificidad del método, pero que debe seguir en estudios ya que la especificidad varía al presentarse otras especies de la bacteria *Streptococcus*.

Jewes y Jones (1986) en su investigación titulada “Rapid method for the detection of Group B streptococci from human resources”. El objetivo del estudio fue evaluar la eficiencia del nuevo método comparándolas con otros métodos como agar a base de almidón y pruebas convencionales. La muestra de estudio fue 4 casos de *Streptococcus agalactiae* (SGB) procedente de 85 hisopados de oído de neonatos y 28 casos de SGB de 195 parturientas que asistieron a la Clínica Prenatal en Leicester Royal Infirmary. Los métodos de detección fueron Strip CAMP, inoculación sobre medio pigmento potenciador (agar a base de almidón) y métodos convencionales (agar sangre de caballo al 5% y agar MacConkey) para cada muestra. Las colonias sospechosas se ratificaron con el método de Lancefield. Los resultados revelaron que la detección de SGB en neonatos con Strip CAMP presentó sensibilidad y especificidad de 100% cada uno; los métodos convencionales presentaron una sensibilidad y especificidad, 80% y 100% respectivamente y el agar a base de almidón manifestó sensibilidad y especificidad, 50% y 100% respectivamente.

Por otro lado, la detección de SGB en parturientas manifestó sensibilidad y especificidad, 93% y 100% respectivamente con el método de Strip CAMP; los métodos convencionales y agar base de almidón presentaron sensibilidad y especificidad, 61%, 100%, 39% y 100% respectivamente.

Resultó ser particularmente útil para detectar *S. agalactiae* en presencia de otras bacterias. Concluyendo que la prueba rápida de CAMP es un método efectivo para la identificación de *Streptococcus agalactiae*.

Wilkinson (1977) en su investigación titulada “CAMP-Disk Test for Presumptive Identification of Group B Streptococci”. El objetivo fue evaluar la eficiencia del método siendo

corroborada con la prueba de Lancefield. El estudio fue realizado con 135 cepas aisladas del laboratorio de la CDC (Centro de control de enfermedades) por agrupación de Lancefield, se evaluaron *Streptococcus* del grupo A, B, C, D y G, empleadas en un estudio doble ciego. Asimismo, se dio una incubación aeróbica a cada siembra. Los resultados de la evaluación de la prueba del disco CAMP con 135 cepas de estreptococos en un estudio doble ciego mostraron que hubo una total concordancia entre la prueba del disco CAMP y la prueba de precipitación de Lancefield. Se concluye la eficacia de este método en remplazo a la prueba de CAMP estándar, sugiriendo como método opcional ante una identificación de *Estreptococos* del grupo B.

1.2.2 Antecedentes Nacionales

Lujan y Francia (2020) en su investigación titulada “Utilidad del medio chromagar orientation, para la identificación de *Streptococcus agalactiae* en urocultivos de gestantes en el hospital San Bartolomé, enero 2016 a marzo 2019, Lima – Perú”. El objetivo del estudio fue determinar la utilidad diagnóstica del medio CHROMagar orientation, en términos de sensibilidad y especificidad, para realizar la identificación de *S. agalactiae* en urocultivos de gestantes. El método aplicado fue diseñar un estudio retrospectivo de corte transversal aplicadas en gestantes hospitalizadas o ambulatorias atendidas que tuvieron urocultivos positivos a *S. agalactiae*. El método estándar empleado fue agar CHROMAGAR ORIENTATION y el sistema Vitek. Se realizaron pruebas diagnósticas para determinar la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo (VPP), el valor predictivo negativo (VPN) y el índice de correlación Kappa. Los resultados indicaron que el grupo de edad más frecuente fue el de 31 a 40 años, con un 70,8% y un 82,5% pertenecientes al tercer trimestre del embarazo. Se incluyeron 36.600 muestras de orina, con 6.626 aislamientos, de los cuales 372 (5,6%) eran de *S. agalactiae*. Determinamos una

sensibilidad del 55,4% (IC del 95%: 50,3 a 60,3), una especificidad del 99,9% (IC del 95%: 98,8 a 100), un valor predictivo positivo del 97,2% (IC del 95%: 94 a 98,7), un valor predictivo negativo del 97,4% (IC del 95%: 97 a 97,8), y una buena concordancia ($\kappa=0,70$).

López (2023) en su investigación titulada “Utilidad y eficacia de las pruebas diagnósticas para *Streptococcus agalactiae* en gestantes: Una revisión narrativa”. El objetivo de este estudio fue determinar la utilidad y eficacia de las pruebas diagnósticas de *Streptococcus agalactiae* en gestantes. El método aplicado será de tipo una revisión narrativa. Los resultados indicaron que entre los métodos utilizados como CRISPR, Prueba rápida antigénica, aglutinación en látex, cultivo convencional, cultivo cromogénico, PCR convencional y PCR en tiempo real. La más usada fue PCR en tiempo real, asimismo, presenta mejores valores estadísticos. Como conclusión, podemos mencionar que todos los métodos mencionados nos ayudan al diagnóstico de la bacteria, pero entre ellas resalta PCR en tiempo real. Aparte, la efectividad de emplear un método depende también del tipo de muestra que se analiza para la identificación de la bacteria gram positiva.

Ledesma et al. (2020) en su investigación titulada “Detección de *Streptococcus agalactiae* a partir de muestras de leche cruda”. Tuvo como objetivo evaluar la identificación de *Streptococcus agalactiae* mediante el método de PCR extrayendo parte del ADN de la leche cruda como muestra de mastitis bovina. El método empleado fue estudiar 50 muestras de leche cruda, se les aplicó el método de PCR, se utilizaron cebadores que amplifican un fragmento de 153pb del gen *cfb*, que encripta para el factor CAMP. También se utilizó, cultivo microbiológico. Posteriormente, los cultivos fueron evaluados con la prueba de CAMP. Los resultados revelaron que la prueba de CAMP detectó a 13 muestras como positivas, mientras que el PCR detectó a 10 muestras positivas que coincidieron con la prueba de CAMP. Pero fueron 3 muestras detectadas como falso positivas por el método de CAMP ya que fueron negativas para PCR. Concluyendo

que este estudio confirma la utilidad del método de PCR para comparar resultados con otros métodos como es la prueba de CAMP.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Determinar la validez diagnóstica de métodos de CAMP modificados para la detección de *Streptococcus agalactiae* aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno Infantil, Lima 2024.

1.3.2 Objetivos específicos

Determinar la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de CAMP Disk Test, en comparación con el método CAMP estándar, para la detección de *Streptococcus agalactiae* aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno Infantil, Lima 2024.

Determinar la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de CAMP Strip Test, en comparación con el método CAMP estándar, para la detección de *Streptococcus agalactiae* en aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno Infantil, Lima 2024.

Determinar la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de Spot CAMP Test, en comparación con el método CAMP estándar, para la detección de *Streptococcus agalactiae* en aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno Infantil, Lima 2024.

1.4 Justificación

El *Streptococcus agalactiae* (conocido también como Estreptococo Beta Hemolítico del Grupo B o GBS por sus siglas en inglés) es una bacteria que puede habitar el trato genital femenino y el recto, con tasas de colonización que oscilan entre el 30% (Jordania) y 2.9 % (Japón). Causante de infección urinaria, asimismo pudiendo afectar mortalmente a recién nacidos y adultos que presenten comorbilidades (diabetes, enfermedad cardiaca, insuficiencia cardiaca congestiva, cáncer o antecedentes de cáncer y obesidad) al no realizarse una detección oportuna. (Nauto, 2019)

En la actualidad, hay diversos métodos para la detección del microorganismo desde cultivos hasta implementación de pruebas moleculares. Pero, la realidad nacional es que en varias Instituciones Prestadoras de Servicios de salud se implementan métodos convencionales y de bajo costo como cultivos.

Asimismo, los cultivos de muestras llevan un periodo mínimo de 3 días para la identificación de las bacterias, siendo extensiva la obtención de un resultado. Por ello, se han realizado investigaciones para acortar el tiempo de resultado.

La prueba de CAMP es un método útil para la identificación de *Streptococcus agalactiae*, sirve como prueba presuntiva. Esta prueba es realizada en agar sangre con una cepa ATCC de *Staphylococcus aureus*, utilizando controles para la revisión de los resultados. Desde años anteriores, se utiliza el método en la rutina de detección de GBS, asimismo investigaciones antiguas han evaluado la posibilidad de modificarla. Para convertir este método en una herramienta asequible, fácil de usar y reducir el tiempo de resultado.

Por ello, esta investigación evaluará la validación de CAMP modificados para la detección de *Streptococcus agalactiae*, Hospital Materno Infantil, Lima 2024, a fin de aportar alternativas a la rutina del laboratorio para una identificación oportuna de esta bacteria e incentivar hacer uso de

estos métodos.

1.5 Hipótesis

Esta tesis no presenta hipótesis.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1. *Streptococcus*

El género *Streptococcus* es un grupo de microorganismos cocos Gram positivos usualmente dispuestos en parejas o cadenas de forma esférico u ovoide con un tamaño aproximado de 2µm, inmóviles y no forman esporas. Son bacterias capaces de fermentar carbohidratos proceso que produce ácido láctico, sin formación de gas, catalasas negativas. La mayoría de las especies son anaerobios facultativos. Las distintas especies del género *Streptococcus*, excepto *S. thermophilus*, crecen bien en medios enriquecidos con sangre, suero o carbohidratos, a 35-37 °C, especialmente si son incubados en una atmósfera con dióxido de carbono al 5-7%. Son nutricionalmente exigentes, necesitando medios enriquecidos con sangre, además de la presencia de un 5% de CO₂, siendo otras anaerobias estrictas. (Murray et al., 2021)

A la actualidad, la clasificación de los *Streptococcus* se basa en la aplicación de una serie de métodos incorporadas por la experiencia de años de investigación en su proceso. Estos son los siguientes:

1. Hemolisis: Referida a la capacidad que presenta los *Streptococcus* en producir hemolisis de los eritrocitos in vitro. De acuerdo a esa capacidad, se clasifica a esta bacteria en 3 tipos de hemolisis como hemolisis beta (destrucción completa de los eritrocitos con el aclaramiento de la sangre alrededor del crecimiento bacteriano), hemolisis alfa (lisis incompleta de los eritrocitos con reducción de hemoglobina y la formación de pigmento verde) y hemolisis gamma (no producen hemolisis).(Arias et al., 2010)

2. Especificidad serológica (antígenos de pared celular o capsulares): Rebecca Lancefield, en 1930, estableció el sistema de agrupación de Lancefield para los estreptococos beta hemolítico. Los antígenos detectados por el sistema de agrupación de Lancefield son polisacáridos de pared celular y son el origen de esta clasificación (A - H y K - U). Esta especificidad de grupo se da por un aminoglúcido del hidrato de carbono específico. Tal como lo menciona Brooks “en el grupo A: ramnosa-N-acetilglucosamina; en el grupo B: ramnosa-glucosamina; en el grupo C: ramnosa-N-acetilgalactosamina; en el grupo D: ácido teicoico de glicerol que contiene D-alanina y glucosa; y en el grupo F: glucopiranosil-Nacetilgalactosamina”. Además, los polisacáridos capsulares se usan para tipificar *Streptococcus pneumoniae* y EGB (*Streptococcus* del grupo B). (Arias et al., 2010)

3. Reacciones Bioquímicas

Estas son reacciones de fermentación de carbohidratos, mediante el cual se evalúa pruebas para determinar la presencia de enzimas y pruebas de susceptibilidad o resistencia a determinados compuestos químicos. Su utilidad se basa en clasificar estreptococos, luego de la obtención de la colonia y evaluar las características hemolíticas. Se utilizan las pruebas bioquímicas para especies que por lo general no se pueden clasificar con la clasificación de Lancefield. (Arias et al., 2010)

2.1.2 *Streptococcus Agalactiae*

2.1.2.1 Antecedentes Históricos. *Streptococcus agalactiae* (Estreptococo del grupo B de Lancefield). Fue considerada por primera vez como una causa de mastitis Bovina según Nocard y Mollereau en 1887. Posteriormente, en el año 1935 se reconoció en hisopos vaginales al *Streptococcus agalactiae*. Para el año 1938, Fry detallo 3 casos fatídicos en mujeres postparto, se le dio una importancia debido a que se sospechaba que las infecciones estreptocócicas se atribuían al estreptococo del grupo A. Estos casos, siguieron presentándose de manera fortuita, tomaron la

atención de los profesionales de salud al convertirse una de las causas de sepsis neonatal temprana de los EE. UU desde el año 1960 hasta 1980. El estreptococo del grupo B paso a ser la causa más común de sepsis neonatal y meningitis en los países desarrollados. (Le Doare y Heath, 2013)

2.1.2.2 Fisiología y Estructura. Los estreptococos del grupo B son cocos Gram positivos (0.6 a 1.2 μm), se presenta como negativo a la Prueba de catalasa y oxidasa. Además, se encuentra formando cadenas cortas en muestra clínicas, aunque el cultivo de las muestras permite encontrar cadenas más largas. La obtención de las colonias se da mediante cultivo en medios enriquecidos con nutrientes que la diferenciara de *Streptococcus pyogenes*, mediante las características de ser grandes y tener una estrecha zona de β -hemólisis. Aunque, hay disyuntivas con algunas cepas de Estreptococo del grupo B al ser no hemolítica, conllevan a no realizar un estudio. (Murray et al., 2021)

Las cepas de *Streptococcus agalactiae* se subdividen en función de la presencia de 3 marcadores serológicos:

A. *El antígeno B o antígeno polisacárido de la pared celular específico del grupo.* El carbohidrato del grupo B es una molécula adherida a la superficie externa de la pared celular, se encuentra unida a un enlace fosfodiéster al peptidoglucano, común a todas las cepas y serotipos de GBS. Compuesto por ramnosa, galactosa, N-acetilglucosamina y glucitol. (Paoletti y Kasper, 2019)

B. *Diez polisacáridos de la capsula específicos de tipo.* La mayoría de cepas de Estreptococos grupo B (GBS) están encapsulados y pueden ser clasificados por la serología y la estructura de CPS (polisacáridos capsulares de tipo específico). Respecto a la serología se han identificado distintos serotipos de GBS como Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX. En el pasado, se consideraba a los serotipos Ia, Ib, II y III tuvieron la misma prevalencia como causantes de la

infección por GBS. A la actualidad, el tipo V es el más importante como causante de infección por GBS. Por otro lado, las cepas de tipo VI y VIII se han convertido en Japón como prevalentes. (Paoletti y Kasper, 2019)

C. La proteína de superficie (antígeno C). Hay dos tipos diferentes: c-alfa y c-beta. Por lo tanto, los EGB que tienen antígeno C se llaman Ib/c y II/c. Este antígeno está presente en las cepas tipo Ia y Ib en el 100%, en las cepas tipo II en el 60%, y rara vez se encuentra en las cepas tipo III. (Pulido, 2020)

2.1.2.3 Hábitat. El tracto gastrointestinal es el principal reservorio de GBS y fuente de colonización vaginal en las mujeres. La higiene local o las prácticas sexuales pueden aumentar el riesgo de colonización vaginal. La bacteriuria por GBS durante el embarazo se asocia con una colonización intensa considerada un factor de riesgo para la transmisión perinatal. Asimismo, coloniza el aparato genitourinario en las demás personas. (Le Doare y Heath, 2013)

2.1.2.4 Factores de Virulencia. Estreptococos grupo B (GBS) actúa como comensal oportunista que constituye parte de la flora fisiológica intestinal y vaginal. Además, la colonización, persistencia, translocación e invasión de las barreras del huésped por GBS dependen en gran medida de su capacidad de adherencia a las células del huésped y a la MEC (proteínas de la matriz extracelular). Presenta una amplia gama de características que hacen que sea importante para adherirse e invadir células, y también para evadir la inmunidad del huésped, lo que le permite causar enfermedades. Algunos de los principales factores de virulencia de EGB incluyen las proteínas de adhesión FbsA y Lmb, las proteínas de invasión hylB, SodA, cfb, Bca y Rib, y las proteínas de evasión Bac, ScpB y CPS. Otro importante factor de virulencia es la producción de hemolisina, que está ligada a la producción de un pigmento característico. (Pulido et al., 2021)

2.1.2.5 Manifestaciones clínicas.

A. Enfermedad neonatal de comienzo precoz. Se presentan al darse una infección por GBS (estreptococos del grupo B) a nivel del útero o durante el nacimiento. Los síntomas aparecen la primera semana de vida, se caracteriza por bacteriemia, neumonía o meningitis. Usualmente, se percibe fácilmente un cuadro de afectación pulmonar, mientras que la afectación meníngea no se manifiesta pronto. Por ello, se solicita un examen de LCR (líquido cefalorraquídeo) en los niños infectados, dando un tratamiento complementario. Los casos referidos a meningitis en estos niños se han superado, aunque una tasa del 15-30% que sobreviven a esta afección presentan secuelas como ceguera, sordera y retraso mental grave. (Murray et al., 2021)

Los serotipos Ia, II, III y V de SGB son responsables de la mayoría de las enfermedades neonatales de comienzo precoz. La transmisión se da por transmisión vertical que ocurre durante el parto o antes del nacimiento. (Le Doare y Heath, 2013)

B. Enfermedad neonatal de comienzo tardío. La manifestación se presenta entre el séptimo día hasta los 3 meses de vida del recién nacido, además presenta un origen exógeno pudiendo ser perinatal, nosocomial o de origen comunitario. Los síntomas prevalentes son la bacteriemia con meningitis similar a cualquier enfermedad producida por otras bacterias. Aparte, la tasa de mortalidad si bien es baja alrededor del 3%, surgen complicaciones en los niños que padecen meningitis. (Murray et al., 2021)

C. Infecciones en mujeres embarazadas. Las manifestaciones suelen ser endometritis postparto, la infección de la herida y las infecciones del aparato genitourinario. Son manejables y presentan pronóstico favorable en gestantes que adquieren tratamiento adecuado. Los casos no tan comunes serían algunas complicaciones secundarias a la bacteriemia como endocarditis,

meningitis y osteomielitis, aunque son infrecuentes. (Murray et al., 2021)

D. Infecciones en hombres y mujeres no embarazadas. Este grupo de pacientes, generalmente son personas de edad mayor que presentan factores de riesgo como diabetes mellitus, enfermedad cardíaca, insuficiencia cardíaca congestiva y cáncer u obesidad. Las manifestaciones frecuentes serían la bacteriemia, neumonía, infecciones óseas y articulares, y las infecciones cutáneas y partes blandas. Debido a estar comprometido con el sistema inmune alterado de estos pacientes. Asimismo, la mortalidad suele estar más elevada en esta población. (Murray et al., 2021)

2.1.2.6 Diagnóstico de laboratorio para identificación de Streptococcus agalactiae. El diagnóstico se establece al identificar el microorganismo a través de cultivos microbiológicos en muestras de sangre, líquido cefalorraquídeo, orina u otras muestras relevantes. En el caso del cultivo de sangre se realiza mediante los sistemas de hemocultivos.

Para estudiar a las mujeres embarazadas que portan el estreptococo del grupo B, se recomienda tomar muestras tanto de la vagina como del ano durante la semana 35-37 de embarazo. Tradicionalmente, se ha sugerido usar caldos de enriquecimiento como caldo de Todd-Hewitt con colistina y ácido nalidíxico, o con gentamicina y ácido nalidíxico y luego sembrar en agar sangre para identificar el estreptococo del grupo B, a través de la detección de antígeno o la prueba CAMP. (Centers for Disease Control and Prevention [CDC],2010)

Por otro lado, cuando las gestantes se realicen un cribado de infección urinaria durante el embarazo y se detecte bacteriuria por Streptococcus agalactiae presentando síntomas como piuria y/o clínica compatible con infección urinaria con un recuento de $\geq 10,000$ UFC/ ml, debe ser informada al clínico para instaurarse tratamiento y realizar seguimiento con urocultivos mensuales. Asimismo, se informa los casos de bacteriuria asintomática significativa ($\geq 10,000$ UFC/ ml en orina). (Alós

et al., 2013)

Aparte, toda gestante diagnosticada con infección urinaria por *Streptococcus agalactiae* debe recibir tratamiento profiláctico sin necesidad de un cultivo vaginorrectal en las semanas 35-37. (Alós et al., 2013)

En los recién nacidos, se recomienda el empleo de detección de antígeno en la sangre, líquido cefalorraquídeo (LCR) u orina como detección precoz de sepsis neonatal, aunque presente baja especificidad es útil para descartar la presencia de este microorganismo en algunos casos. (De la Rosa y De Cueto,1998.).

También, se puede diagnosticar mediante un hemocultivo al recién nacido cuando presente cuadro clínico con sospecha de sepsis. (Alós et al., 2013)

A. *Identificación mediante Cultivo.* *Streptococcus agalactiae* se desarrolla con facilidad en medios enriquecidos después de 24 horas de incubación en condiciones aeróbicas o anaeróbica conforme al medio de cultivo empleado. Dentro de la categoría de medios encontramos:

- Agar sangre de carnero al 5%

Es un medio no selectivo que permite evaluar la Beta hemolisis (hemolisis completa) del microorganismo, después de una incubación de 18 a 24 horas en condiciones aeróbicas. Obtendremos colonias de 2mm de diámetro, lisas y rodeadas de un halo de beta hemolisis, aunque también existan cepas no hemolíticas. (De la Rosa y De Cueto,1998.).

- CHROMagar orientation

Es un medio cromogénico no selectivo ya que permite detectar múltiples microorganismos uropatógenos cualitativamente de forma presuntiva. El medio es utilizado con muestras de orina y los resultados del cultivo son obtenidos en un lapso de 18-24h a 35-37 °C. La ventaja del medio es que producen un color único y característico con cada tipo de microorganismo. En el caso de *Streptococcus agalactiae*, las colonias son pequeñas y color azul claro. (CHROMagar, 2022)

- CHROMagar™ StrepB

Es un medio cromogénico para detección de *Streptococcus agalactiae*, permite el uso de especímenes como orina, vaginal y rectal. Nos permite observar las colonias de EGB, al sembrar la muestra directamente en el medio o también con un paso previo de colocar la muestra en un caldo de enriquecimiento Todd-Hewitt/LIM y luego incubar la placa a 35-37 °C por 18 o 24h. Las colonias obtenidas tendrán un color malva característico del microorganismo EGB. Esta es una prueba presuntiva de EGB que deberá ser corroborada con pruebas bioquímicas, inmunológicas o espectrofotometría de masas MALDI-TOF. Asimismo, el desarrollo de estas pruebas confirmatorias podría utilizar las colonias malvas de EGB aisladas del medio. (CHROMagar,2021)

- Medio de Granada

El medio es selectivo y diferencial de *Estreptococos* del grupo b (EGB) en muestras clínicas. El medio utiliza granadina, es un pigmento rojo polienico para diferenciar EGB de otros microorganismos, aparte inhibe el crecimiento de microorganismos diferentes a EGB. El crecimiento de las colonias sucede en un ambiente anaeróbico y por un periodo de 18 hasta 24h. (BIOMÉRIEUX,2022)

Las sociedades médicas españolas recomiendan el medio Granada para detectar el estreptococo

del grupo B en mujeres embarazadas entre las semanas 35 y 37, a partir de muestras ano rectal como también vaginal y rectal. Esto permite identificar a las embarazadas que deben recibir tratamiento preventivo con antibióticos durante el parto, para evitar la infección neonatal precoz por este microorganismo. Este medio de cultivo se vende en España, Reino Unido y Estados Unidos. (De la Rosa et al.,2000)

Una limitación del medio es que no detectan cepas no hemolíticas, pues las cepas no hemolíticas no producen pigmento. (Alós et al., 2013)

B. Pruebas Bioquímicas. Prueba de CAMP. Se evalúa el método en la pag.30.

- Prueba de Hidrolisis de hipurato

La prueba determina la capacidad enzimática de un microorganismo para hidrolizar hipurato de sodio (ácido hipúrico) y obtener ácido benzoico y glicina mediante la acción de la enzima hipurato hidrolasa (hipuricasa). La actividad enzimática de un microorganismo será determinada por cualquier producto del hidrolisis como ácido benzoico o glicina. (MacFaddin, 2004)

La detección de *Streptococcus agalactiae* (SGB) difiere debido a la procedencia de las cepas como cepas de SGB bovinas u SGB humanas. Las cepas bovinas degradan el hipurato, pero las de tipo humanas no poseen esta capacidad. (Ayers y Rupp, 1922)

Se recomienda el uso de otras pruebas para la distinción de SGB bovinos (+) con SGB de especies humanas (normalmente negativas) en la prueba de hidrolisis de hipurato. Por otro lado, es útil para la diferenciación de *Streptococcus* Beta hemolíticos como SGB, estreptococo del grupo A y enterococos (*Streptococcus* del grupo D). (MacFaddin, 2004)

Considerados por largo tiempo como un tipo de *Streptococcus*, pero con estudios genéticos

posteriores se le considero como nuevo género de *Enterococcus*. (Ortega, 2010)

A la actualidad, se utiliza una prueba rápida de hidrolisis de hipurato para la detección de *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Gardnerella vaginalis* y *Streptococcus agalactiae* mediante la capacidad de las especies bacterianas que utilizan el indicador de cloruro férrico para detectar el ácido benzoico. En un periodo de 2 horas a diferencia del método convencional de 48 horas. (Leber y Burnham, 2023)

- Resistencia a discos de bacitracina y cotrimoxazol

La prueba determina la sensibilidad de un microorganismo a la bacitracina y cotrimoxazol La bacitracina es un antibiótico compuesto por una mezcla de polipéptidos cíclicos producidos por una variante de la bacteria *Bacillus subtilis*, identificada en 1945. Este medicamento se utiliza para tratar infecciones por bacterias Gram positivas, especialmente en heridas y membranas mucosas. Actúa inhibiendo la formación de la pared celular bacteriana. Los estreptococos beta-hemolíticos del grupo A son sensibles a este antibiótico. (Corrales et al., 2022)

El trimetoprim y el sulfametoxazol son dos tipos de antibióticos que se suelen usar juntos debido a su efecto complementario, conocidos como cotrimoxazol. La proporción de estos dos fármacos es generalmente de 1:5. Para realizar la prueba, se toman de tres a cuatro colonias con un asa y se extienden desde el centro hacia la mitad de una placa de agar con sangre. Luego se coloca un disco de bacitracina (A) de 0,04 unidades y otro de SXT a igual distancia en el centro de la siembra. Posteriormente, se lleva a incubación a 37 °C durante 24 a 48 horas en condiciones aeróbicas. (Corrales et al., 2022)

Nos ayuda en la diferenciación de estreptococos beta hemolíticos del grupo A de otros

estreptococos betahemolíticas. (MacFaddin, 2004)

Figura.1

Interpretaciones del disco de bacitracina/SXT

<i>Bacitracina</i>	<i>SXT</i>	<i>Identificación presuntiva</i>
S	R	Estreptococos β -hemolítico del grupo A
R	R	Estreptococos β -hemolíticos del grupo B
R	S	Estreptococos β -hemolíticos que no pertenecen a los grupos A o B
S	S	Descartar grupo A o B con las pruebas serológicas

Nota. Adaptado de *Interpretaciones del disco de bacitracina/SXT* por MacFaddin, 2003, Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica 3era Edición

C. Pruebas inmunológicas. Aglutinación de látex

La prueba de aglutinación de látex se fundamenta en reacciones inmunológicas entre antígenos y anticuerpos, donde las partículas de látex recubiertas con anticuerpos específicos generan una reacción de aglutinación al entrar en contacto con los antígenos correspondientes, lo cual se manifiesta por la formación de una malla o grumos visibles a simple vista. (Gonzales et al.,2018)

Mediante el método se podrá clasificar a los estreptococos hemolíticos, basándose en las reacciones serológicas de los carbohidratos de la pared celular. Los carbohidratos presentes en los estreptococos de los grupos A, B, C, F y G son complejos antígenos que contienen un oligosacárido de ramnosa y diferentes ramificaciones, compuestas principalmente de glucosamina acetilada o no acetilada. Ante eso, algunos kits comerciales utilizan ácido nitroso para la extracción del antígeno. Este método ofrece importantes ventajas respecto de otros procedimientos de agrupamiento estreptocócico por su rapidez, simplicidad y conveniencia. (PathoDx,2016)

D. Detección por equipos automatizados. VITEK 2. En los últimos 20 años, se han desarrollado diversos sistemas automatizados para identificar y evaluar la susceptibilidad antimicrobiana de microorganismos. Estos sistemas se basan en la interpretación automática de resultados de pruebas bioquímicas o en el uso de placas de microdilución, seguido de incubación durante la noche y determinación fotométrica del crecimiento. Los avances tecnológicos que permiten una rápida identificación bacteriana y evaluación de susceptibilidad antimicrobiana ahora se reconocen por sus beneficios tanto clínicos como financieros. (Ligozzi,2002). El sistema VITEK, originado en la década de 1970, es un sistema automatizado para identificación y determinación de susceptibilidad antimicrobiana, que ha evolucionado hasta convertirse en el sistema VITEK 2. Este sistema realiza automáticamente todos los pasos necesarios para la identificación y determinación de susceptibilidad antimicrobiana después de preparar y estandarizar un inóculo primario. Utiliza un análisis cinético mediante la lectura de cada prueba cada 15 minutos, combinando lecturas de fluorímetro y fotómetro multicanal para registrar señales de fluorescencia, turbidez y colorimetría. (Ligozzi,2002). Los microorganismos *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus pneumoniae* están causando más enfermedades, y algunos se han vuelto resistentes a los medicamentos. Por eso, es cada vez más importante identificar rápida y precisamente estos microorganismos, y evaluar la concentración mínima inhibitoria de los antibióticos. (Ligozzi,2002)

MALDITOF. La espectrometría de masas con desorción láser asistida por matriz y tiempo de vuelo (MALDI-TOF MS). La espectrometría de masas MALDI-TOF se ha convertido en el método principal para identificar rápidamente microorganismos en entornos clínicos. Los sistemas MALDI-TOF disponibles comercialmente se basan en la detección de patrones de péptidos genéricos, lo que limita su capacidad para diferenciar especies muy relacionadas y subtipos. Las

proteínas ribosómicas conservadas (rsp) son abundantes y se pueden detectar con los equipos MALDI-TOF. Usando datos genómicos, se pueden predecir las masas moleculares de diferentes rsp. Estas masas de rsp se pueden medir con MALDI-TOF, lo que permite un enfoque de clasificación más específico y preciso que el reconocimiento de patrones convencional. Se ha desarrollado un método MALDI-TOF rentable, rápido y robusto para el tipaje de GBS(*Streptococcus agalactiae*) basado en rsp, que es transferible entre laboratorios y permite estudios epidemiológicos y clínicos a gran escala. (Rothen et al.,2019)

E. Detección por pruebas moleculares. Análisis de ácidos nucleicos. Son recomendados en casos urgentes debido a su rapidez, alta sensibilidad y especificidad; sin embargo, no están disponibles en todos los laboratorios y requieren personal altamente capacitado. (López,2023). La PCR en tiempo real tiene alta sensibilidad y especificidad (62,5-100% y 84,6-100% respectivamente). Los resultados de la PCR deben informarse de manera cualitativa, indicando si se detectó o no la presencia de *Streptococcus agalactiae*. (López, 2023). Mediante el método de PCR se puede realizar estas pruebas: Secuenciación del gen *cfb* y del 16SrDNA y Tipificación de secuencias multilocus. Ambas utilizadas en casos de resultados no específicos con *Streptococcus agalactiae* ante resultados de CAMP negativo.

2.1.2.7 Terapia antibiótica. Los estreptococos del grupo B (EGB) son sensibles a la penicilina y derivados, considerándose los fármacos de primera línea. Asimismo, los fármacos de segunda línea indicados en pacientes alérgicas a β -lactámicos, son eritromicina (ERI) o clindamicina (CLI). (Arbarzúa et al.,2011)

Sin embargo, estudios recientes han descrito un aumento de la concentración mínima inhibitoria (MIC) de betalactámicos (penicilina y ampicilina) en aislamientos de EGB, mostrando mediciones superiores a 0,25 $\mu\text{g/mL}$ e incluso 0,5 $\mu\text{g/mL}$. (Jaramillo et al.,2018)

Debido a una mutación en la PBP (proteína fijadora de penicilina), específicamente en la PBP 2X, por tanto esto permite que la penicilina no se una a la PBP, lo cual conlleva a la formación de la pared celular de las bacterias y al no funcionamiento del antibiótico. Es considerada una posible explicación para la reducción en la sensibilidad a la penicilina G y otros antibióticos betalactámicos. Aunque, a la actualidad los betalactámicos son los antibióticos más usados para el tratamiento del EGB. (Lopardo,2016)

Por otro lado, la opción de administrar antibióticos de tipo macrólidos y lincosamidas en algunos pacientes no funciona debido a la resistencia del antibiótico.

La resistencia a macrólidos está codificada por 3 genes: *ermB*, *ermTR* y *mefA/E*. Los mecanismos de resistencia son:

A. ***Unión a la diana del antibiótico.*** Efectuado por los genes *ermB* y *ermTR* mediante la codificación de una metilasa de ARN 23S que altera la unión y manifiesta la resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B (MLS_B) de manera constitutiva ($MLS_B C$) o inducible ($MLS_B I$). (Artiles et al.,2012)

B. ***Bomba de expulsión.*** Realizado por el gen *mefA/E* mediante la codificación de una bomba de expulsión (mecanismo de eflujo), expresando bajo nivel de resistencia a ERI y sensibilidad a lincosamidas. (Artiles et al.,2012). Es recomendable un estudio continuo de la evolución de resistencia del EGB a los macrólidos, ya que los genes son transportados por plásmidos y transposones. Su transmisión puede ser de forma vertical u horizontal. (Artiles et al.,2012).. La resistencia de estos antibióticos será evaluada fenotípicamente mediante la difusión en Agar Mueller Hinton con 5% de sangre de carnero según el método de Kirby y Bauer conforme a la estandarización del CLSI, llevándose a prueba la inducción con discos de Eritromicina (15 µg)

y Clindamicina (2 μg) separados 20mm entre sí. (Lopardo,2016). Los resultados a esperar serán los siguientes: Fenotipo S (ERI y CLI sensibles), Fenotipo M (ERI resistente y CLI sensible sin achatamiento en su halo de inhibición), Fenotipo MLS_B inducible (ERI resistente y CLI sensible con achatamiento en su halo de inhibición), Fenotipo MLS_B constitutivo (ERI y CLI resistentes). (Lopardo,2016)

Por último, la evaluación de los genotipos de resistencia a macrólidos se realiza con el método de PCR y secuenciación. (Lopardo,2016)

2.1.3. Prueba de Camp

El fenómeno lítico se denomina prueba o reacción de CAMP debido a los apellidos de los descubridores: Christie, Atkins y Munch-Petersen. La prueba de CAMP sirve para determinar la capacidad de los Streptococcus de producir un agente lítico y manifestarlo como una zona hemolítica con la β lisina estafilocócica.(MacFaddin, 2004)

Su fundamento se basa en utilizar un medio de agar con sangre de ovino o bovino, seguido de la siembra de Streptococcus del grupo B con una colonia de Staphylococcus aureus (de origen animal mayormente), consecuentemente se producirá una sinergia, manifestando la confirmación del tipo de Streptococcus sembrado. El sinergismo es producido por la β lisina estafilocócica que posee actividad hemolítica de fosfolipasa C (esfingomielinasa) frente a eritrocitos ovinos o bovinos e hidroliza la esfingomielina proporcionada por los eritrocitos.(MacFaddin, 2004)

Bioquímica

2.1.3.1 β - Lisina. Producida por Staphylococcus aureus mayormente de origen animal, es infrecuente en cepas humanas. Posee actividad de hemólisis de fosfolipasa C (esfingomielinasa)

atacando a eritrocitos ovinos o bovinos, mediante la hidrolización de la esfingomielina de los eritrocitos.(MacFaddin, 2004)

Para ello, la fosfolipasa C está compuesto de 2 componentes como β - Lisina catiónica y β - Lisina aniónica ambos actúan en presencia de calor o frio, pero el componente β - Lisina aniónica solo actúa contra células de ovejas lisadas. Asimismo, el componente principal es la β - Lisina catiónica que actúa en presencia de T° altas y bajas producidas en condiciones aeróbicas o anaeróbicas. Presenta una actividad optima a pH 7 a 7.2, temperatura desde 37 a 40°C. Esta actividad se complementa con iones activadores como magnesio (Mg^{+2}) o manganeso (Mn^{+3}) debido a que permiten la liberación de fosforo inorgánico de la esfingomielina. A diferencia del ácido etilendiaminotetraacetico (EDTA), el citrato o los iones de calcio (Ca^{+2}) que inhiben la hemolisis ya que dificulta la liberación de fosforo orgánico procedente de la esfingomielina.(MacFaddin, 2004)

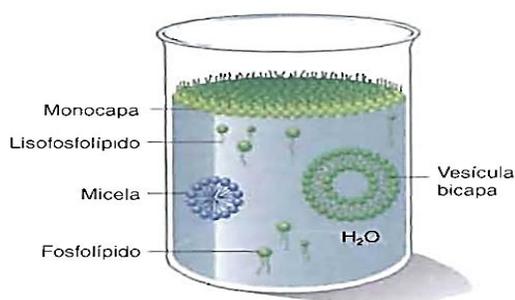
Posteriormente, la revelación de la lisis no ocurre durante la incubación primaria a 37 °C, requiere de un posterior enfriamiento a 25 °C o 4 °C para obtener una lisis visible. La hemolisis a 37 °C, no es representativo de la β - Lisina de *S. aureus*, pero se puede dar en caso se altere el ambiente físico de los glóbulos rojos sensibilizados a la β - Lisina. (MacFaddin, 2004)

Wiseman argumentó que esta β - Lisina no es una hemolisina verdadera, depende del ambiente externo del eritrocito que debe estar alterado. En la incubación, la β - Lisina potencia la lisis de células ovinas por otras hemolisinas (por ejemplo, los estreptococos del grupo B y la estafilosina).(MacFaddin, 2004)

2.1.3.2 Fosfolípidos. Los fosfolípidos presentan propiedades tanto hidrófilas como hidrofóbicas (moléculas anfipáticas) realiza funciones importantes en los seres vivos, como componentes de las membranas, agentes emulsionantes y agentes superficiales activos. Existen dos clases de fosfolípidos: fosfoglicéridos y esfingomielina.(Mckee y Mckee, 2003)

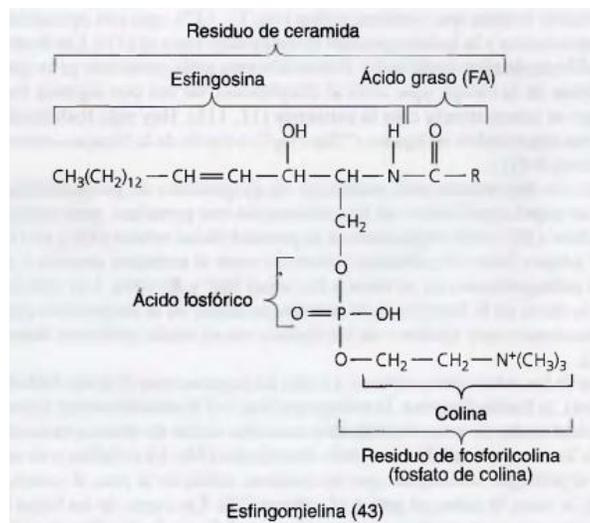
Figura.2

Moléculas de fosfolípidos

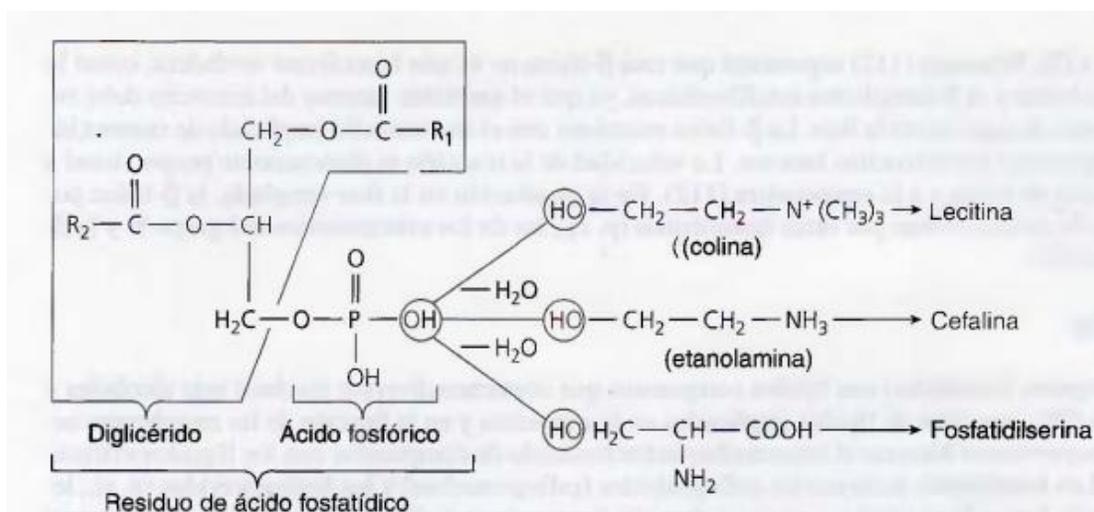


Nota: Cada molécula está representada por un grupo de cabeza polar unido a una o dos cadenas de ácido graso. Las moléculas de fosfolípidos solo poseen una cadena de ácido graso. Primero se forma la monocapa sobre la superficie del agua. Al aumentar la formación de fosfolípidos, comienzan a formarse vesículas bicapa. Debido a su menor tamaño, las moléculas de lisofosfolípidos forman micelas. Adaptado de *Moléculas de fosfolípidos en disolución acuosa* por Mckee y Mckee, 2003, Bioquímica La base molecular de la vida.

Las esfingomielinas se diferencian de los fosfoglicéridos en que contienen esfingosina en lugar de glicerol. Los fosfoglicéridos son moléculas que contienen glicerol, ácidos grasos, fosfato y un alcohol.

Figura.3*La esfingomielina*

Nota. Adaptado de *Esfingomielina* por MacFaddin, 2003, Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica 3era Edición

Figura. 4*Los fosfoglicéridos*

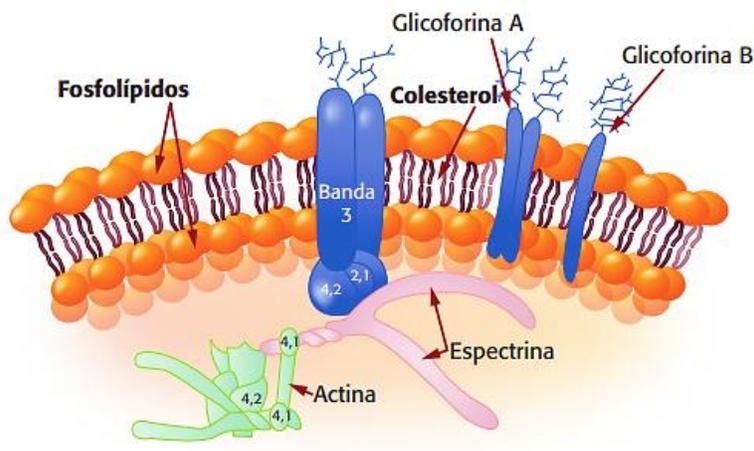
Nota. Los fosfoglicéridos (glicerofosfolípidos) está conformado por lecitina, cefalina y fosfatidilserina que solo se diferencian por el componente nitrogenado unido al componente ácido fosfatídico. Adaptado de *Los fosfoglicéridos* por MacFaddin, 2003, Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica 3era Edición

2.1.3.3 Eritrocitos. La membrana biológica está formada por lípidos (40%), proteínas (50%), e hidratos de carbono (10%). Estos componentes ayudan a mantener la forma circular del glóbulo rojo y le permiten moverse a través de capilares estrechos. (Moraleda, 2020)

Los lípidos de la membrana del hematíe se encuentran constituido por fosfolípidos, colesterol no esterificado y escasos glicolípidos. Se distribuyen en la doble capa lipídica de la membrana equimolecularmente. Asimismo, los 4 fosfolípidos presentes se encuentran distribuidos irregularmente ya que la fosfatidilcolina y la esfingomielina predominan en la capa externa, mientras que la fosfatidiletanolamina y la fosfatidilserina, junto con los constituyentes fosfoinosítics menores, hacia la capa interna. Los fosfolípidos presentan porciones hidrófilas que toman soluciones acuosas del interior y exterior de la célula, mientras que los grupos hidrófobos, junto con el colesterol, se orientan hacia la parte interna de la bicapa. (MacFaddin, 2004)

Figura.5

Estructura de la membrana del hematíe



Nota. Adaptado de *Esquema de la membrana de hematíe* por Moraleda, 2017, Pregrado de Hematología 4ta Edición.

Los fosfolípidos presentan un papel fundamental en la membrana celular como permeabilidad celular, control de transferencia de agua y solutos (iones carbonato y cloruro) entre el ambiente externo e interno. Aparte, su combinación con las proteínas establece la rigidez de la membrana celular.

Se debe considerar que los fosfolípidos de los eritrocitos de diferentes especies solo varía en frecuencia y cantidad. Pero, los elementos son comunes para todo tipo de eritrocito como ácido fosfatídico, fosfatidiletanolamina (cefalina), la fosfatidilserina, la esfingomiélin y el fosfatilinositol (lipositol).

Figura. 6

Proporciones de Lecitina: Esfingomielina de diversos animales

<i>Especies</i>	<i>Proporciones de lecitina:esfingomielina</i>
Rata, perro, cobayo	4:1
Caballo	3:1
Humana, conejo	3:2
Cerdo, gato	1:1
Bovino (vaca, buey), oveja, cabra	1:12

Nota. Adaptado de *Proporciones de Lecitina: Esfingomielina de diversos animales* por MacFaddin, 2003, Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica 3era Edición

2.1.3.4 Factor y reacción CAMP. El factor CAMP es una proteína secretada por *S. agalactiae*, la cual presenta un peso molecular de 25 kDa se caracteriza por ser difusible, extracelular, termoestable (estable al calor). Actúa sobre el eritrocito lisándolos mediante la formación de poros, el mecanismo de acción se basa en lisar los eritrocitos mediante un mecanismo colide-osmótico formando canales en la membrana del hematíe, por el cual se escaparán iones y metabolitos fuera del hematíe. En consecuencia, habrá un aumento de la presión osmótica intracelular y el ingreso de agua en la célula provocando un estallido celular.(MacFaddin, 2004)

Asimismo, actúa sinérgicamente con la esfingomielinasa C sobre la sangre de oveja y de buey. La reacción CAMP puede presentarse antes o simultáneamente con la hidrólisis enzimática de la esfingomielina,(MacFaddin, 2004)

2.1.3.5 Medios de cultivo empleado. El medio de cultivo adecuado para los Streptococcus son placas de agar con sangre, debido a la exigencia de nutrientes que requiere estos microorganismos. Puede utilizarse placas de agar sangre con sangre citratada o defibrinada de oveja o buey. Pero, no debería usarse sangre de caballo, conejo, cobayo ni humano ya que no es efectivo para la reacción de CAMP. Asimismo, se sugiere tener precaución con lotes de sangre de oveja que contengan β -antitoxina ya que produce la inhibición de β -toxina estafilocócica.(MacFaddin, 2004)

2.1.3.6 Microorganismos utilizados para el control de calidad.

A. Prueba de CAMP estandarizada.

Streptococcus agalactiae (+) ATCC 27956

Streptococcus pyogenes (-) ATCC 19615

2.1.3.7 Prueba de CAMP.

Proceso de método CAMP estándar

1. Se requiere el uso del sustrato de β lisina. Por ende, se cultivará una cepa ATCC de *Staphylococcus aureus* procedente de origen animal.
2. El cultivo de *S. aureus* se realiza en un medio enriquecido como agar sangre de ovino o bovino al 5%.
3. Posteriormente, se procede a incubar en condiciones aeróbicas o anaeróbicas a 37 °C.
4. En el proceso de cultivo, se coloca con el apoyo de un asa de siembra una estría de colonias de *S. aureus* en el centro de la placa de agar sangre.
5. Luego, colocar mediante una estría de forma perpendicular a la estría de *S. aureus*, las colonias sospechosas de *Streptococcus agalactiae* sin tocar el inóculo estafilocócico.
6. Se puede estriar hasta 4 microorganismos en sospecha por placa.
7. Seguido, se lleva a incubar y se recomienda sin CO₂ a 37 ± 2 °C por 18 a 24 h. La incubación en aerobiosis aumenta la especificidad de la prueba debido a que son pocos los *Streptococcus* que no pertenecen al grupo B sean positivos en esta condición atmosférica.
8. En cambio, en una jarra de anaerobiosis, cabe la posibilidad que cause falsos positivos, ya que *Streptococcus* del grupo A resulta CAMP positivo. Y la revisión es desde las 5h hasta 18 horas.
9. Finalmente, se visualiza una reacción positiva al tener un "aspecto de flecha" la hemolisis sinérgica. (MacFaddin, 2004)

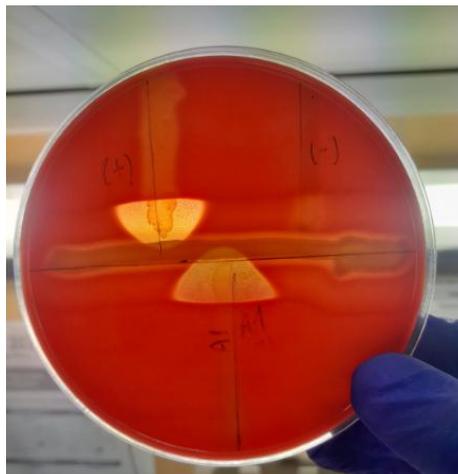
2.1.3.8 Interpretación.

A. Reacción de CAMP positiva.

Se evalúa en la placa de agar sangre, la presencia de una punta de flecha con un halo transparente (hemólisis completa). Se ubica en la conversión de la estría estafilocócica y la estría problema (*Streptococcus agalactiae*) debido a la sinergia de los componentes de b-lisina estafilocócica y factor CAMP que genera una lisis completa de los eritrocitos. La zona de hemólisis sinérgica (zona transparente o clara) se encuentra bordeada por una zona más oscurecida donde la b-lisina estafilocócica solo modifico, pero no produjo lisis de los eritrocitos. Asimismo, una reacción negativa sería la ausencia de la punta flecha en la conversión de las estrías. (MacFaddin, 2004)

Figura.7

Reacción de CAMP estándar

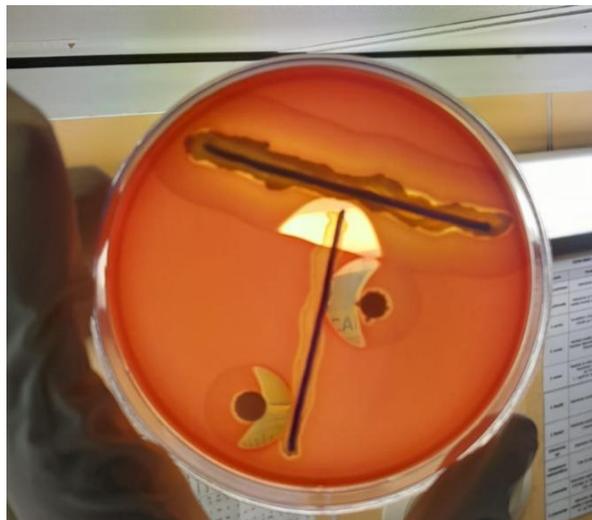


Nota. Control positivo de *Estreptococo* del grupo B mediante el método de CAMP estándar. Adaptado por Autoría propia

2.1.4 Pruebas de CAMP modificados

Son pruebas con algunos cambios del método a fin de convertirlo en un método alternativo ante desabastecimiento de cepa *Staphylococcus aureus* ATCC y adecuar diversas presentaciones de esta bacteria para el diagnóstico. Haciendo de estas presentaciones fáciles de usar, económicas y que posean un mismo o mejor rendimiento que la prueba de CAMP estándar para la identificación de estreptococos grupo B.

2.1.4.1 CAMP Disk (Disco CAMP). La modificación de la prueba CAMP para detectar estreptococos del grupo B implicó reemplazar un disco de papel impregnado con una sustancia llamada beta-hemolisina por un cultivo de estafilococos que contiene esa misma sustancia. Este disco se coloca en una placa de agar con sangre de oveja junto a la muestra de *Streptococcus* que se está analizando. Después, la placa se incuba en condiciones aeróbicas a una temperatura de 35°C. Si la prueba es positiva, se observará una zona clara en forma de luna dentro de las 24 horas en el área oscura que rodea el disco, donde se encuentra la beta-hemolisina. La prueba de disco CAMP es una forma sencilla y conveniente de identificar posibles estreptococos del grupo B. (Wilkinson, 1977)

Figura.8*Reacción de CAMP Disk*

Nota. Control positivo de *Estreptococo* del grupo B mediante el método de CAMP Disk. Adaptado por Autoría propia

Método

A. ***Preparación de beta-lisina estafilocócica parcialmente purificada.*** Se resuspende el crecimiento nocturno de la cepa SS697 de *S. aureus* en un agar inclinado de soja Trypticasa en 3,5 ml de solución salina fisiológica. Se añade un mililitro de suspensión bacteriana a cada una de tres botellas de 250 ml de caldo Todd-Hewitt ajustado a pH 5,2, 5,5 o 7,6.

Después de una incubación durante la noche a 35°C, los caldos Todd-Hewitt de pH 5,2 y 5,5 contenían un crecimiento bacteriano muy ligero, y el caldo Todd-Hewitt de pH 7,6 contenía un crecimiento intenso. Cada botella se centrifugó y su fluido sobrenadante se pasó a través de un filtro de membrana (Millipore Corp.; tamaño de poro, 0,22 μ m). Cada filtrado estéril se analizó por separado para determinar la actividad de beta-lisina como sigue. Se dejó que un disco de papel de filtro entrara en contacto con un filtrado de beta-lisina hasta que se saturó con fluido. Los discos

preparados se colocaron en un SBAP (Staphylococcus aureus en placa de agar sangre de carnero 5%), elaborado con una suspensión al 5% de eritrocitos de oveja lavados en agar tripticasa soja y a una profundidad de 5 mm. Después de que las placas se incubaron durante la noche a 35°C, se examinó la oscuridad del agar sangre adyacente a cada disco. Zona característica de la beta-lisina. Debido a que la mejor actividad de lisina j₃ se produjo con el disco impregnado con el filtrado de pH 7,6, los otros dos se eliminaron de cualquier etapa de purificación adicional. (Wilkinson, 1977)

B. Preparación de Discos CAMP. Se realizaron diluciones dobles de la beta-lisina parcialmente purificada en PBS-Mg. Se colocaron discos de papel de filtro impregnados con diversas diluciones de prueba de beta-lisina sobre SBAP (Staphylococcus aureus en placa de agar sangre de carnero 5%) y se midió el diámetro de la zona oscura que rodea cada disco después de una incubación durante la noche a 35°C. Aunque se produjeron zonas alrededor de discos saturados con diluciones de hasta 1:16, en experimentos posteriores se utilizó beta-lisina sin diluir. Cada disco absorbió aproximadamente 0,02 ml de beta-lisina sin diluir, y el diámetro de la zona resultante fue aproximadamente dos veces mayor que el diámetro del disco; es decir, un disco de 6 mm tenía una zona de 10 a 13 mm (incluido el disco). Estos discos se denominarán en adelante discos CAMP. (Wilkinson, 1977)

Los discos CAMP se dividieron en tres grupos y se secaron de la siguiente manera. El grupo 1 se colocó en una cámara de evacuación durante 3 días a temperatura ambiente. El grupo 2 fue evacuado durante 3 días a 4°C. El grupo 3 se liofilizó y se selló al vacío. La mitad de cada grupo se almacenó con desecante de gel de sílice a temperatura ambiente y la otra mitad se almacenó con gel de sílice a -20°C. Las pruebas posteriores mostraron una actividad de beta-lisina equivalente en los tres grupos, y los discos permanecieron activos después del almacenamiento durante 3 años a -20°C. Por lo tanto, los discos CAMP utilizados en una evaluación doble ciego

de la prueba se prepararon de la forma más conveniente: desecación durante 21 h a temperatura ambiente y almacenamiento con desecante de gel de sílice a -20°C . (Wilkinson, 1977)

2.1.4.2 Strip CAMP (Test de Tira CAMP). La tira CAMP es una forma eficiente, rápida y sencilla de identificar los estreptococos del grupo B en muestras con otras bacterias. A diferencia de otros métodos, la alta contaminación no afecta la detección del fenómeno CAMP en esta prueba. Este método es más rápido y eficaz que los convencionales, que pueden tardar hasta 3 días en identificar las bacterias. Además, es más práctico que los métodos serológicos, que dependen de antisueros de calidad, son más costosos y no suelen detectar la bacteria en cultivos mixtos. (Jewes y Jones, 1986)

Método:

A. ***Preparación de beta-hemolisina estafilocócica.*** Este se preparó según el método de Wilkinson (1977), excepto que la enzima parcialmente purificada no se aplicó a discos de papel de filtro sino a tiras de papel de filtro estériles (papel de filtro Whatman No. 1 cortado en tiras de aproximadamente 4 cm x 0,5 cm). Estos se colocaron en frascos de vidrio estériles de 25 ml con tapa de rosca y se esterilizaron en autoclave a 120°C durante 20 min. Las tiras estériles se sumergieron en la enzima parcialmente purificada y se dejó escurrir el exceso de líquido antes de su uso. (Jewes y Jones, 1986)

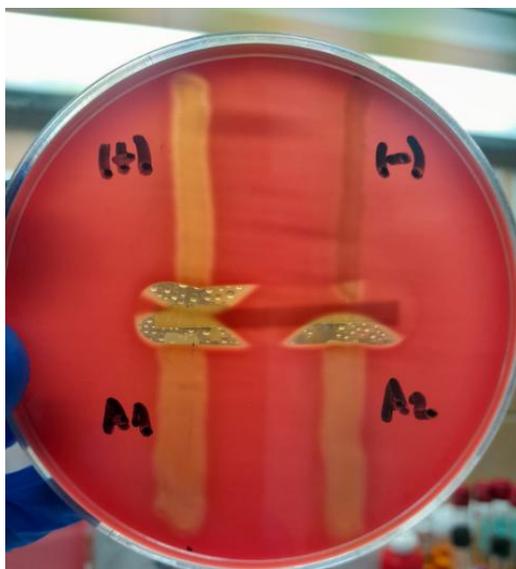
B. ***Almacenamiento de beta-lisina parcialmente purificado.*** Se probaron las siguientes formas de almacenamiento de la beta-lisina estafilocócica: (A) en solución a -20°C en una botella de vidrio estéril; (B) sobre discos de papel de filtro a -20°C ; (C) en solución a 4°C en un frasco de vidrio estéril; (D) sobre discos de papel de filtro a 4°C ; (E) en discos de papel de filtro que se secaron calentando durante la noche a 35°C , luego se colocaron en recipientes de vidrio estériles sobre desecante de gel de sílice y se almacenaron a -20°C ; (F) en discos de papel de filtro

y se secó como en (E) pero se almacenó a temperatura ambiente y (G) se liofilizó en ampollas (cada ampolla contenía 0,2 ml) selladas en uacuo y se almacenaron a temperatura ambiente. Después de 3 meses, se analizó la actividad de la Beta-lisina almacenada en cada forma en la prueba CAMP con estreptococos del grupo B. La enzima en forma de solución se probó después de su aplicación a discos de papel de filtro. La enzima liofilizada se reconstituyó en agua destilada estéril y luego se aplicó a discos de papel de filtro. (Jewes y Jones, 1986)

C. **Método para realizar la prueba de tira de camp.** Se colocaron en paralelo tres tiras de papel de filtro empapadas en beta-lisina estafilocócica parcialmente purificada a través de una placa de agar sangre de oveja. Asimismo, se pueden utilizar muestras de hisopados vaginal u oído. Las placas se incuban en aire a 35°C durante 18-20 h. Las colonias de estreptococos del grupo B se detectan por la aparición de distintas áreas semicirculares de hemólisis completa dentro de la zona de hemólisis parcial adyacente a la tira de papel de filtro que contenía estafilococo Beta-lisina. La prueba se denominará en lo sucesivo prueba en tira CAMP. (Jewes y Jones, 1986)

Figura.9

Reacción de Strip CAMP



Nota. Control positivo de Estreptococo del grupo B mediante el método de Strip CAMP. Adaptado por Autoría propia

2.1.4.3 Spot CAMP. Es una prueba rápida derivada del método de CAMP estándar, el cual espera evaluar en un tiempo mínimo de 20 minutos la detección de la bacteria *Streptococcus agalactiae*. El método consiste en aplicar la beta lisina extraída y purificada de la siembra de *Staphylococcus aureus*. La actuación de la beta lisina será la de un reactivo que será colocado cerca a la siembra de las colonias sospechosas de *Streptococcus agalactiae*. De esta manera, esperamos obtener resultados en un tiempo reducido.

A. Preparación de Beta-Lisina. Se preparó un filtrado que contenía beta-lisina a partir de *Staphylococcus aureus* de la siguiente manera: se cultivó *S. aureus* (ATCC 25923) a 35 °C durante 48 horas en caldo Todd-Hewitt. El cultivo se centrifugó para sedimentar las células y el líquido sobrenadante se pasó a través de un filtro de acetato de celulosa de 0,45 µm). El filtrado que contenía beta-lisina se almacenó a temperatura ambiente. (DiPersio et al., 1985)

B. Realización de la prueba Spot-CAMP. Las placas de aislamiento primario se sembraron con muestras clínicas frescas y se incubaron aeróbicamente a 35°C en CO₂ al 10%. Las colonias sospechosas de pertenecer al género *Streptococcus* se probaron utilizando el procedimiento Spot-CAMP de la siguiente manera: se colocó una gota de beta-lisina adyacente a una colonia individual que crecía en un SBAP primario de modo que el borde de la gota apenas tocara la colonia. También se colocó una gota de beta-lisina en todas las placas en un área bien alejada de cualquier crecimiento bacteriano para garantizar que la preparación de beta-lisina por sí sola no causara hemólisis. Las gotas se dispensaron utilizando una pipeta Pasteur o una jeringa de tuberculina de 1,0 ml. Las placas se incubaron aeróbicamente a 35 °C y se examinaron en busca de evidencia de hemólisis sinérgica a intervalos de 10 minutos durante hasta una hora. Un aumento >2,0 mm en el radio de la zona de hemólisis después de la aplicación de la beta-lisina se consideró prueba positiva. (DiPersio et al., 1985)

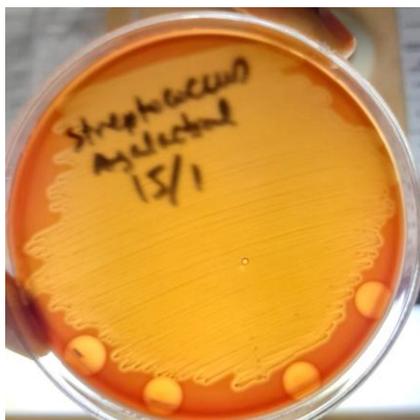
Cada nuevo número de lote de SBAP se analizó para determinar la inhibición de la reacción CAMP con el uso de un aislado de control de GBS.

C. Rendimiento de la prueba Std-CAMP. La prueba Std-CAMP se realizó trazando primero *S. aureus* (ATCC 25923) a lo largo de una línea recta por el centro de un SBAP. Los aislados de estreptococos que se iban a analizar se sembraron en líneas rectas en ángulo recto con respecto a la raya de *S. aureus*, pero sin tocarla. Se incluyó un aislado de GBS conocido como control positivo. Se examinaron las placas después de una incubación durante la noche (18-24 horas) a 35°C. Una prueba CAMP positiva se indicó por un área distintiva en forma de punta de flecha de hemólisis mejorada en la unión entre las rayas estreptocócicas y estafilocócicas. (DiPersio et al., 1985)

D. Identificación de estreptococos. Los aislamientos de estreptococos se confirmaron mediante combinaciones de los siguientes procedimientos: susceptibilidad a la bacitracina, tinción inmunofluorescente con antisuero comercial, pruebas bioquímicas y serogrupo Lancefield. (DiPersio et al., 1985)

Figura.10

Reacción de Spot CAMP



Nota. Control positivo de Estreptococo del grupo B mediante el método de Spot CAMP. Adaptado por Autoría propia

III. METODO

3.1 Tipo de Investigación

El estudio realizado es de diseño observacional, retrospectivo de enfoque cuantitativo tipo transversal descriptivo

- Observacional: Se basa en la utilización de técnicas que permiten a los investigadores recoger información mediante la observación directa y el registro de los fenómenos, sin ejercer ninguna intervención. (Müggenburg y Pérez, 2018)
- Prospectivo: La atención se centra en investigar acontecimientos que tendrán lugar desde el momento que se inicia el estudio hacia adelante. (Müggenburg y Pérez, 2018)
- Cuantitativo: Mediante la recolección de datos permite demostrar hipótesis, de acuerdo a una medición numérica y su análisis estadístico, a fin de instituir pautas de comportamiento y demostrar teorías. (Hernández et al., 2014)
- Transversal: Su objetivo es describir variables y analizar su impacto e interrelación en un momento dado. (Hernández et al., 2014)

El análisis será realizado en un solo momento y no se hará continuación del estudio.

- Descriptivo: Su intención es medir o recopilar, de forma independiente o colectiva, información sobre los conceptos o variables a los que se refieren; es decir, su propósito no es indicar cómo están relacionados. (Hernández et al., 2014)

3.2 **Ámbito Temporal y espacial**

3.2.1 *Ámbito temporal*

La presente investigación se desarrolló durante los meses de julio del 2024 hasta septiembre del 2024.

3.2.2. *Ámbito espacial*

Se desarrolló en el área de Microbiología clínica del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé (HONADOMANI San Bartolomé), perteneciente al Ministerio de Salud del Perú (MINSA).

3.3 **Variables**

Variable General:

Prueba de CAMP modificados

3.3.1 *Operacionalización de variables*

Variables	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala	Escala Valorativa
Prueba de CAMP modificados	Evaluación macroscópica de la hemolisis sinérgica.	<ul style="list-style-type: none"> - CAMP estándar - Strip CAMP - CAMP Disk - Spot CAMP 	Sensibilidad, especificidad, VPP, VPN	Cualitativo Nominal	Positivo Negativo

3.4 Población y muestra

La población del estudio está conformada por 52 aislados de EGB (Estreptococos del grupo B) aislados de muestra de orina y 17 cepas de Enterococcus entre Enterococcus faecalis, faecium y avium, por último, 1 cepa de Streptococcus dysgalactiae aislados de muestras de orina, sangre y secreción provenientes de una población adulta atendidas en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé (HONADOMANI San Bartolomé). Estas cepas se encontraban conservadas en el cepario del Laboratorio de microbiología, de acuerdo a las normas implementadas en el Laboratorio, las cuales provienen de una colección de estocaje del periodo 2020-2024.

- Criterios de inclusión
 - Cepas bacterianas que presenten viabilidad y pureza en los medios de cultivo.
- Criterios de exclusión
 - Cepas bacterianas que no presenten viabilidad y pureza en los medios de cultivo probados.

3.5 Instrumentos

Para obtener los datos, se utilizará una ficha de recopilación de datos (Anexo 2).

3.6 Procedimientos

Evaluación del cepario y reactivación de las cepas.

Se reactivaron un total de 120 cepas de Streptococcus agalactiae aisladas de urocultivo (cultivos de orina) e identificadas mediante el sistema automatizado Vitek 2 compact. Eran conservadas en el cepario del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé. Una parte de las cepas fue conservada en agar TSA (Agar soya tripticasa) a temperatura ambiente en ausencia de la luz, mientras que la otra parte fue conservada en caldo TSA con glicerol a -20°C.

Las cepas fueron reactivadas en caldo BHI (infusión cerebro corazón) por 48 horas en estufa a 35°C. Posteriormente, fue sembrada en agar sangre de carnero al 5%, luego se incubo en

condiciones aeróbicas a 35°C durante 24 horas, de esta manera, se evalúa la viabilidad de la cepa. Se evalúa la cosecha y en caso de encontrar colonias con características fenotípicas de *Streptococcus agalactiae* se purifican y se realiza pruebas complementarias como catalasa y tinción Gram para su identificación. Las cepas confirmadas como *S. agalactiae* son usadas en la evaluación de las Pruebas de CAMP modificados.

Obtención de discos de papel filtro y tiras de papel filtro.

El papel filtro se manipula para la obtención de discos mediante un perforador obtenemos la forma de discos de papel filtro.

Recomendación: También puede utilizarse discos en blanco

Por otro lado, las tiras de papel filtro se realizarán con las siguientes medidas 4 cm x 0.5 cm, según Jewes y Jones.

Esterilización de los discos de papel filtro y tiras de papel filtro

Luego de la obtención de los discos y tiras de papel filtro, realizamos la esterilización del material. Para esto, se insertará en frascos de vidrio tamaño 49 mm x 21mm los discos y tiras en frascos distintos. La esterilización se realizará en la autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Obtención de beta lisina

Se comienza por realizar una siembra de cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en agar sangre de carnero al 5%. Se obtiene las colonias de *S. aureus* a las 24h, seguido se procede a inocular las colonias obtenidas en caldo BHI (infusión cerebro corazón) a fin de obtener la beta lisina del microorganismo.

El caldo BHI se dispensará en 2 tubos de tamaño 130mm x 15mm, ambas son inoculadas con colonias de *S. aureus*, deben ser pocas ya que posteriormente serán llevadas a centrifugación. Evaluar la turbidez del caldo, luego de la inoculación de colonias de *S. aureus*. Posteriormente, se

llevará a incubación en la estufa a 35°C por 48h.

Al finalizar la incubación se realiza una centrifugación a 3000RPM x 10min. Se recolecta el líquido sobrenadante en un frasco esterilizado tamaño 55mm x 28mm, con una pipeta Pasteur descartable estéril. Se traslada el sobrenadante a otro frasco mediante el uso de una jeringa de 5ml con un filtro de membrana estéril de 0.45mm. Todo el procedimiento realizado en condiciones asépticas.

Luego de obtener la beta lisina estafilocócica purificada se distribuye a viales de 1ml para su posterior uso, finalmente se rotula con la fecha de producción y almacenadas a -20°C.

Conservación de beta lisina

Una vez usado un vial de beta lisina estafilocócica, se descongela y guarda en refrigeración a 4°C. Entonces podrá ser usado cuantas veces se requiera.

Preparación de discos y tiras CAMP

Los discos son extendidos en una placa estéril Petri, se impregnan con 10 µl de beta lisina cada disco. Para el caso de las tiras, son embebidos en su totalidad insertándolas en el extracto de beta lisina parcialmente purificada, seguido se extiende en una placa estéril. Ambos discos y tiras fueron llevado a incubación para el secado del papel filtro a 35°C por 24h.

Luego de las 24h, se procede a guardar en frascos tamaño 49mm x 21mm. tanto discos y tiras de beta lisina estafilocócica a una temperatura de -20°C. Cada frasco contenía gel de sílice a fin de extender el ciclo de vida del material.

Almacenamiento de discos y tiras CAMP

Se guardan en congelación para un tiempo de uso prolongado, cada frasco contenía gel de sílice para un mayor tiempo de uso. Asimismo, según los estudios de Wilkinson se pronostica el uso de hasta 3 años de la beta lisina parcialmente purificada.

Uso de controles de calidad ATCC

La ejecución del método merece el empleo de cepas ATCC como mediadores de calidad.

Las cepas ATCC usadas en este método fueron las siguientes:

- Streptococcus agalactiae ATCC 12386
- Enterococcus faecalis ATCC 29212
- Staphylococcus aureus ATCC 25923

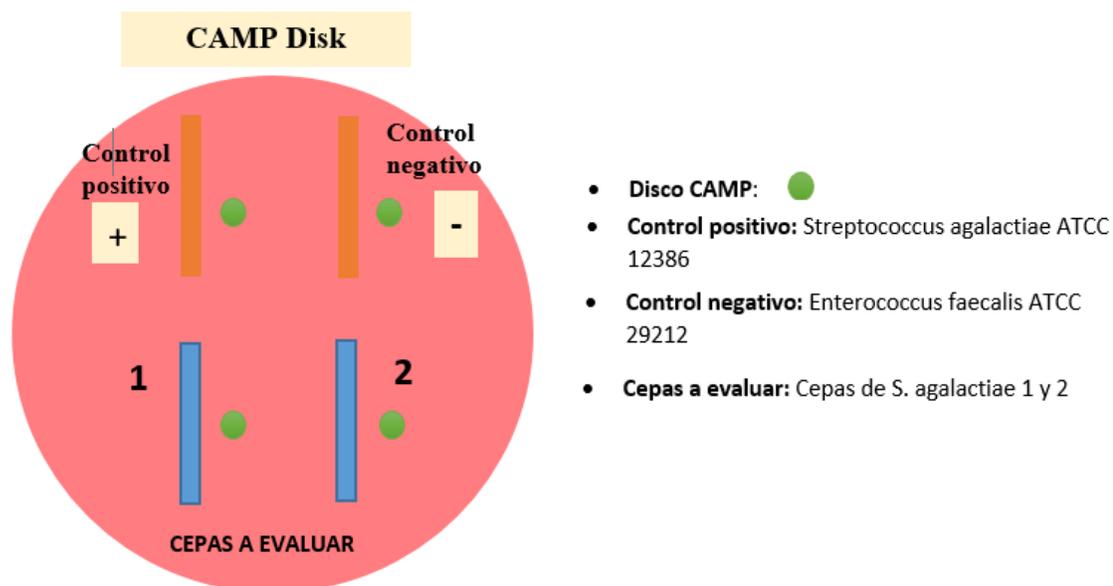
Las cepas ATCC fueron sembradas en agar sangre e incubadas a 35°C por 24h.

Aplicación de métodos CAMP modificados

Se realiza un esquema para cada método de CAMP modificados como los siguientes:

Figura.11

Método de CAMP Disk



Nota. Esquema de método CAMP Disk. Adaptado por Autoría propia

El grafico nos describe el método de CAMP Disk.

La siembra realizada en agar sangre de carnero al 5%, se utiliza controles de cepas ATCC

en la parte superior.

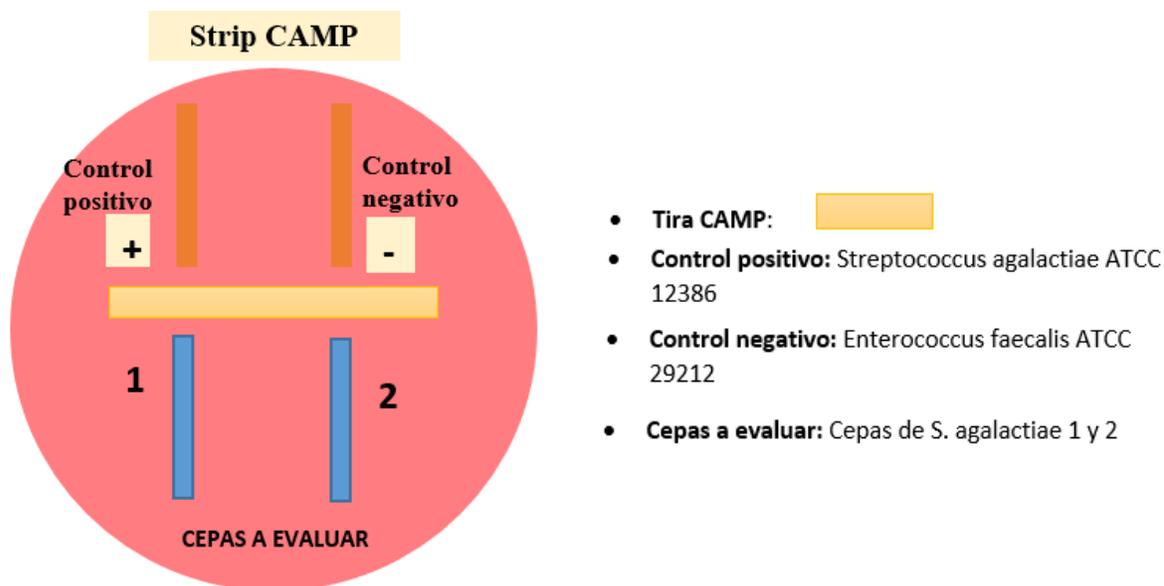
En el inferior de la placa, se inocula la cepa reactivada para evaluar si produce la hemolisis sinérgica entre el factor CAMP y la beta lisina estafilocócica.

El método de CAMP disk, consiste en colocar un disco CAMP al costado de la cepa a evaluar con una pinza esterilizada por el fuego del mechero. Se coloca un disco a 1cm de distancia de la cepa. La medida se debe a que a las 24 horas se expandirá la hemolisis.

Entonces se incuba a en la estufa a 35°C por 24h. Pasado el tiempo, una reacción positiva nos mostrara una zona sinérgica en forma de "media luna ".

Figura.12

Método de Strip CAMP



Nota. Esquema de método Strip CAMP. Adaptado por Autoría propia

El grafico nos describe el método de Strip CAMP

La siembra realizada en agar sangre de carnero al 5%, se utiliza controles de cepas ATCC en la parte superior.

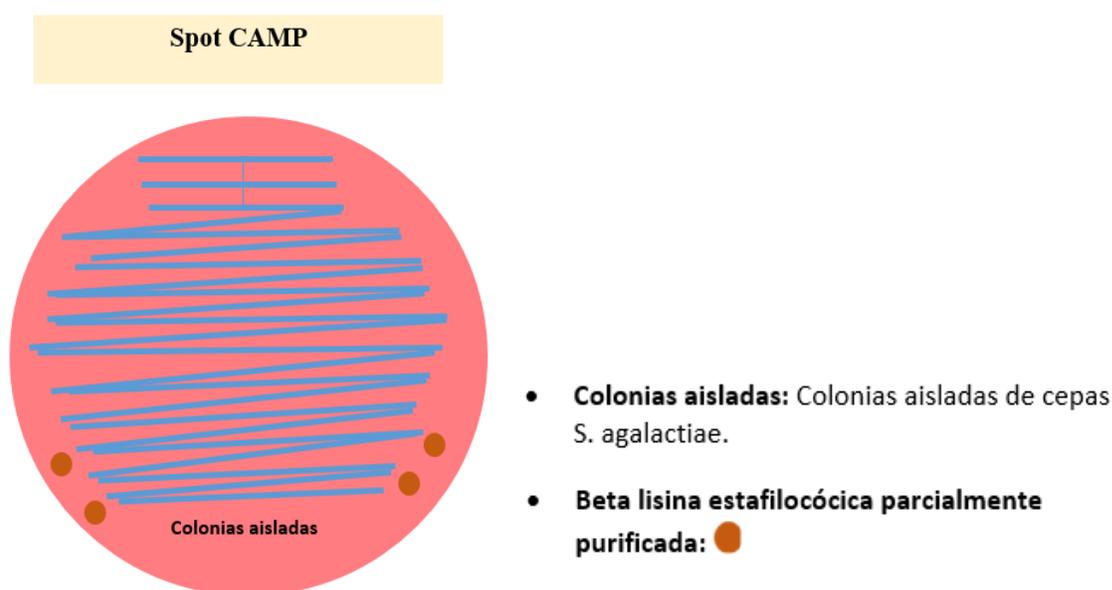
En el centro, se coloca una Tira CAMP, la cual se encuentra con beta lisina estafilocócica adherida.

En el inferior de la placa, se inocula la cepa reactivada para evaluar si produce la hemolisis sinérgica.

El método de Strip CAMP (tira CAMP), consiste en colocar una tira CAMP sustituyendo a la estría de *Staphylococcus aureus* con una pinza esterilizada por el fuego del mechero. luego se coloca en la estufa a 35°C por 24h. Pasado el tiempo, una reacción positiva nos mostrara una zona sinérgica en forma de " semicircunferencia "

Figura.13

Método de Spot CAMP



Nota. Esquema de método Spot CAMP. Adaptado por Autoría propia

El grafico nos describe el método de Spot CAMP

Se realiza la inoculación de una cepa reactivada en una placa completa de agar sangre de

carnero al 5%, Se incuba en la estufa a 35°C por 24h. Posterior, se obtiene las colonias de *Streptococcus agalactiae* entonces se realizará el método rápido de CAMP (Spot CAMP).

El método consiste en añadir 10 µl de beta lisina parcialmente purificada con una pipeta automática o asa de siembra cerca de las colonias obtenidas.

Se puede evaluar la reacción de hemolisis a partir los 20 minutos. Pero preferible observarlo a los 60 minutos ya que la intensidad de la hemolisis es más apreciable. una reacción positiva nos mostrará una zona sinérgica en forma de "circunferencia," representando la distribución de la gota de beta lisina, esta se tornará a un color más claro que el agar intensificándose con las horas.

Los métodos de CAMP modificados serán comparados con el método de CAMP estándar, el cual consiste en realizar una estría de *Staphylococcus aureus* y perpendicularmente una estría de una colonia de *Streptococcus agalactiae*. Luego se procede a incubar en la estufa a 35°C por 24h. Pasado las 24horas, se podrá observar la hemolisis sinérgica. Tal como se observa en la Fig.6.

Los resultados obtenidos a nivel macroscópico, se anotarán y recopilará la información obtenida en la ficha de recolección de datos (Anexo 2).

3.7 Análisis de datos

Los datos obtenidos se consignaron en la ficha de recolección de datos. Posteriormente, los datos obtenidos serán analizados mediante el programa EXCEL versión 2021. Los resultados se presentan a través de estadística descriptiva mediante IBM SPSS Statistics V26.

3.8 Consideraciones éticas

En este estudio no resulta necesario la elaboración de un consentimiento informado debido a que se trabajará con aislados de *Streptococcus agalactiae*, se obviaron la historia clínica y datos adicionales del paciente. Se consideró los lineamientos de ética del comité de investigación de la institución donde se realizó el estudio (Hospital Nacional Docente madre niño San Bartolomé).

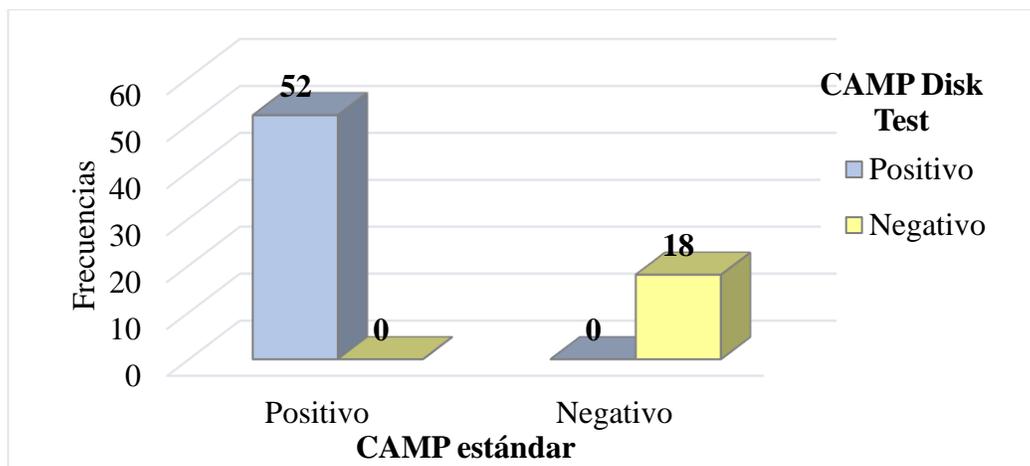
IV. RESULTADOS

4.1 Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de CAMP Disk Test en comparación con el método de CAMP estándar

Tabla 1. Frecuencias entre el CAMP estándar y el CAMP Disk en la detección de *Streptococcus agalactiae* de orina procesados en un Hospital Materno Infantil, Lima, 2024

CAMP estándar	CAMP Disk Test		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	N° 52	N° 0	52
Negativo	0	18	18
Total	52	18	70

Figura 14. Frecuencias entre el CAMP estándar y el CAMP Disk en la detección de *Streptococcus agalactiae* de orina procesados en un Hospital Materno Infantil, Lima, 2024



Tal como se evidencia, 52 de las cepas bacterianas evaluadas dieron positivo en la detección de *Streptococcus agalactiae* con el CAMP estándar y también dieron positivo con el CAMP Disk Test. Por otro lado, 18 cepas bacterianas dieron negativo con el CAMP estándar y dieron negativo con el CAMP Disk Test.

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{Falsos negativos}} = \frac{52}{52 + 0} = 100,0\%$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{Falsos positivos}} = \frac{18}{18 + 0} = 100,0\%$$

$$\text{VPP} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{Falsos positivos}} = \frac{52}{52 + 0} = 100,0\%$$

$$\text{VPN} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{Falsos negativos}} = \frac{18}{18 + 0} = 100,0\%$$

Tal como se evidencia, el CAMP Disk Test tuvo una sensibilidad del 100,0% para identificar positivos en la detección de *Streptococcus agalactiae* tomando como referencia el método de CAMP estándar. A su vez, el CAMP Disk Test tuvo una especificidad del 100,0%; un valor predictivo positivo del 100,0%, y un valor predictivo negativo del 100,0%.

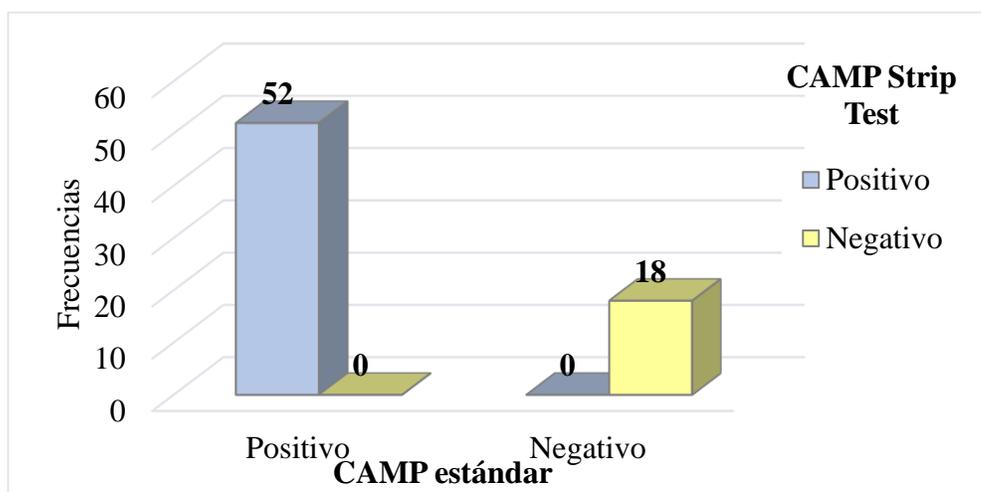
Por otro lado, el valor de Kappa de Cohen que se consiguió al evaluar la concordancia entre el CAMP Disk Test y el método de CAMP estándar fue de 1,0. Lo cual indica que hubo una muy buena concordancia entre ambos métodos. Por lo que el CAMP Disk Test presentó validez diagnóstica para la detección de *Streptococcus agalactiae* aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en el Hospital Materno-Infantil.

4.2 Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de CAMP Strip Test en comparación con el método de CAMP estándar

Tabla 2. Frecuencias entre el CAMP estándar y el CAMP Strip en la detección de *Streptococcus agalactiae* de orina procesados en un Hospital Materno Infantil, Lima, 2024

	CAMP Strip Test		Total
	Positivo	Negativo	
CAMP estándar	N°	N°	N°
Positivo	52	0	52
Negativo	0	18	18
Total	52	18	70

Figura 15. Frecuencias entre el CAMP estándar y el CAMP Strip en la detección de *Streptococcus agalactiae* de orina procesados en un Hospital Materno Infantil, Lima, 2024



Como se observa, 52 de las cepas bacterianas analizadas dieron positivo en la detección de *Streptococcus agalactiae* con el CAMP estándar y también dieron positivo mediante el CAMP Strip Test. Mientras que 18 cepas bacterianas dieron negativo con el CAMP estándar y dieron negativo con el CAMP Strip Test.

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{Falsos negativos}} = \frac{52}{52 + 0} = 100,0\%$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{Falsos positivos}} = \frac{18}{18 + 0} = 100,0\%$$

$$\text{VPP} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{Falsos positivos}} = \frac{52}{52 + 0} = 100,0\%$$

$$\text{VPN} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{Falsos negativos}} = \frac{18}{18 + 0} = 100,0\%$$

Según se muestra, el CAMP Strip Test tuvo una sensibilidad del 100,0% para identificar positivos en la detección de *Streptococcus agalactiae* en comparación con el método de CAMP estándar. Asimismo, el CAMP Strip Test tuvo una especificidad del 100,0%; un valor predictivo positivo del 100,0%, y un valor predictivo negativo del 100,0%.

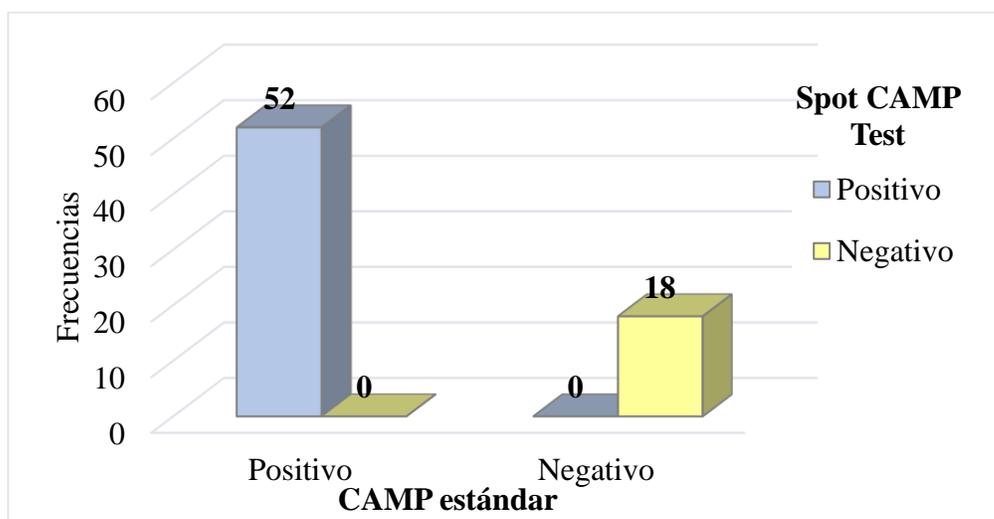
Por su parte, el valor de Kappa de Cohen resultante al evaluar la concordancia entre el CAMP Strip Test y el método de CAMP estándar fue de 1,0. Este valor indica que hubo una muy buena concordancia entre ambos métodos. De manera que el CAMP Strip Test presentó validez diagnóstica para la detección de *Streptococcus agalactiae* aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en el Hospital Materno-Infantil.

4.3 Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de Spot CAMP Test en comparación con el método de CAMP estándar

Tabla 3. Frecuencias entre el CAMP estándar y el Spot CAMP en la detección de *Streptococcus agalactiae* de orina procesados en un Hospital Materno Infantil, Lima, 2024

CAMP estándar	Spot CAMP Test		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	N° 52	N° 0	52
Negativo	0	18	18
Total	52	18	70

Figura 16. Frecuencias entre el CAMP estándar y el Spot CAMP en la detección de *Streptococcus agalactiae* de orina procesados en un Hospital Materno Infantil, Lima, 2024



De acuerdo a lo que se muestra, 52 de las cepas bacterianas evaluadas dieron positivo en la detección de *Streptococcus agalactiae* con el CAMP estándar y también dieron positivo con el Spot CAMP Test. Por su parte, 18 cepas bacterianas dieron negativo con el CAMP estándar y dieron negativo con el Spot CAMP Test.

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{Falsos negativos}} = \frac{52}{52 + 0} = 100,0\%$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{Falsos positivos}} = \frac{18}{18 + 0} = 100,0\%$$

$$\text{VPP} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{Falsos positivos}} = \frac{52}{52 + 0} = 100,0\%$$

$$\text{VPN} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{Falsos negativos}} = \frac{18}{18 + 0} = 100,0\%$$

De acuerdo a lo que se aprecia, el Spot CAMP Test tuvo una sensibilidad del 100,0% para identificar positivos en la detección de *Streptococcus agalactiae* tomando como punto de comparación al método de CAMP estándar. Por su parte, el Spot CAMP Test tuvo una especificidad del 100,0%; un valor predictivo positivo del 100,0%, y un valor predictivo negativo del 100,0%.

A su vez, el valor de Kappa de Cohen encontrado al evaluar la concordancia entre el Spot CAMP Test y el método de CAMP estándar fue de 1,0. Lo cual indica que hubo una muy buena concordancia entre ambos métodos. Esto conlleva a indicar que el Spot CAMP Test tuvo validez diagnóstica para la detección de *Streptococcus agalactiae* aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en el Hospital Materno-Infantil.

4.4 Validez diagnóstica de los métodos de CAMP modificados para la detección de *Streptococcus agalactiae*

Para evaluar la validez diagnóstica con todos los métodos de CAMP modificados se empleó el valor de Kappa de Fleiss; con lo cual se obtuvo un coeficiente de 1,0. Lo cual muestra que hubo una muy buena concordancia entre todos los métodos de CAMP modificados y el método estándar. Por lo cual, hubo validez diagnóstica para la detección de *Streptococcus agalactiae* aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en el Hospital Materno-Infantil.

V. DISCUSION

Las infecciones invasivas por EGB (Estreptococo del grupo B) alteran el pronóstico de morbilidad y mortalidad conforme a la población afectada como son recién nacidos (RN), adultos gestantes y no gestantes.

En nuestra región, se han realizado estudios para la vigilancia de esta enfermedad. Por ello, investigaciones realizadas como el de Pullido (2019) nos plantea que en los últimos años se ha ido observando un incremento de detección de EGB recuperados de aislamientos de cultivos de orina en el Hospital Nacional Docente Madre Niño "San Bartolomé", a partir del 2010 (1,6%) hasta 2018 (5,6%), ubicándose como el tercer patógeno urinario más frecuentemente aislado en el último periodo. Asimismo, un estudio realizado por Nauto (2019) en el Instituto Nacional Materno Perinatal determino la prevalencia de la colonización vaginal y ano rectal por *Streptococcus agalactiae* en gestantes de 35 a 37 semanas en un corto periodo de enero hasta julio del 2017, los resultados estimaron que la prevalencia era superior a la esperada en América Latina y se asocia a la edad materna, numero de gestación y nivel de instrucción.

Estos datos resaltan la relevancia del EGB como un asunto de salud pública y la necesidad de una detección temprana, así como de estrategias terapéuticas y de prevención alternativas contra estas infecciones.

Con el fin de realizar una detección oportuna de EGB, se evalúa 3 métodos fenotípicos de la prueba de CAMP modificados como CAMP Disk, Strip CAMP y Spot CAMP para la detección de EGB de manera presuntiva, usando como patrón de referencia la Prueba de CAMP estándar. Analizando los resultados para la prueba de CAMP Disk se pudo observar una alta sensibilidad y especificidad de la prueba, 100 % para ambos. Además, una muy buena concordancia (1) con la técnica de referencia. Estos resultados son similares a los obtenidos por Wilkinson (1977) en Atlanta-EE.

UU, quien propuso el método y utilizo como Gold estándar el método de agrupación de Lancefield y se obtuvo una sensibilidad de 100 % y especificidad de 100 % y una concordancia de 1(completa).La población utilizada para la evaluación de la prueba de CAMP disk fueron 135 estreptococos de diferentes tipos según la clasificación de Lancefield como son 25 estreptococos del grupo A, 26 estreptococos del grupo B, 28 estreptococos del grupo C, 26 estreptococos del grupo D y 30 estreptococos del grupo G.

El segundo método evaluado fue Strip CAMP, los resultados obtenidos exhiben una sensibilidad y especificidad del 100 % para ambos. Además, una concordancia de 1 aplicado con cepas aisladas de cultivo de orina considerado como muy bueno con la prueba de referencia. Estos datos obtenidos en nuestro estudio se pueden comparar con la investigación realizada por Jewes y Jones (1986) en Leicester-UK, en el cual se aplicó como Gold estándar el método de agrupación de Lancefield, los resultados manifestaron una sensibilidad de 93% siendo evaluada con 28 estreptococos del grupo B de muestras procedentes de oído en neonatos y vaginorrectal de parturientas resaltando que su mayor aporte es presentar la beta lisina estafilocócica preparada y lista para usar en un caso de detección de EGB. A la actualidad, se presume que la variación de sensibilidad se deba a que las cepas de EGB detectadas como CAMP negativas con el gen *cfb* sea por defectos de transcripción, baja expresión génica o baja actividad del factor CAMP según Podbielski et al. (1944).

El ultimo método evaluado fue Spot CAMP, la importancia de este método radica en el corto periodo de detección (20 min) a diferencia de los anteriores. Los resultados obtenidos en este estudio fue sensibilidad y especificidad del 100 % para ambos. Además, una concordancia de 1 que nos indica una muy buena concordancia con la prueba de CAMP estándar. Se compara el estudio con los datos de DiPersio et al. (1985) que estudio a un total de 233 EGB hemolíticas

procedentes de muestras frescas que fueron subcultivadas en agar sangre de carnero. Las cuales todas fueron positivas para Spot CAMP, Prueba de CAMP estándar y con el método de agrupación de Lancefield. Estimando una sensibilidad y especificidad del 100% para ambos.

Por otro lado, Moreno et al. (2023) en México, informó que el método cromogénico (Strep B, CHROMagar™) presenta una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del 100% cada uno. Mientras que el método de CAMP estándar exhibe una sensibilidad del 0%, especificidad del 100%, VPP de 0% y VPN de 89%. El estudio presento la limitación de no evaluar con análisis molecular o serotipificación para confirmar si los estreptococos del grupo B (EGB) no presentaban el factor CAMP. Mientras que Lujan y Francia (2020) en su investigación por evaluar la utilidad de CHROMagar orientation para la detección *S. agalactiae* obtuvieron como resultados de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de 55.4%, 99.9%, 97.2% y 97.4%, respectivamente.

Por otro lado, algunas investigaciones consideran que la prueba de CAMP no es suficiente para la identificación de *Streptococcus agalactiae* como Zhou et al. (2023) quienes analizaron características moleculares de CAMP negativos sospechosos para *Streptococcus agalactiae*, obtuvieron una tasa de deficiencia del 7.9% del gen *cfb*, contrastando con Jorgensen et al. (2015) quien indico que la gran mayoría de *Streptococcus agalactiae*, alrededor del 98%, posee el gen *cfb* y expresa el factor CAMP. Kurosawa et al. (2016) menciona que el factor CAMP es una proteína secretada por *Streptococcus agalactiae* que provoca debilidad al sistema inmune durante una infección sistémica por su propiedad perforante, algunos ensayos in vivo provocaron muerte animal considerándolo factor de virulencia esencial según Rajagopal (2009). Lo cual coincide con Christie et al. (1944) quien descubrió el método y asegura que el factor CAMP vendría a ser un factor principal de virulencia por *Streptococcus agalactiae* evaluada por la presencia de esta

proteína con la prueba de CAMP. Ledesma et al. (2020) en su estudio señalo que el método de PCR es útil para el contraste con métodos bioquímicos como la prueba de CAMP en muestras de leche cruda para la detección de *Streptococcus agalactiae*.

El contraste de estas investigaciones conlleva a requerir una mayor investigación acerca del mecanismo del factor CAMP en las infecciones causadas y su relevancia como factor de virulencia de *Streptococcus agalactiae*.

Si bien los estudios anteriores nos muestran la existencia de *Streptococcus agalactiae* con alteraciones de la función del factor CAMP y el gen *cfb* camuflándose como CAMP negativo. Se sugiere utilizar los métodos de CAMP modificados como alternativos en el conjunto de opciones de detección de *Streptococcus agalactiae*.

En la rutina de detección de EGB se utiliza medios selectivos como Strep B CHROMagar o Medio de granada, también medios no selectivos como agar sangre de carnero al 5%, las colonias sospechosas son evaluadas mediante pruebas bioquímicas y métodos fenotípicos presuntivos como Prueba de CAMP o Prueba de hidrolisis de hipurato. Se complementa con una evaluación de pruebas bioquímicas y antibiograma mediante equipos automatizados como Vitek 2 y MALDI-TOF y en casos singulares pruebas moleculares y de serotipificación. Ante eso, la identificación de esta bacteria no pasa desapercibida.

En este estudio se evalúa las pruebas de CAMP modificados obteniendo buenos resultados en su rendimiento. Estos son métodos alternativos que permiten la detección de EGB, trabajando con la beta lisina estafilocócica parcialmente purificada extraída de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en diferentes presentaciones a fin de detectar el agente bacteriano en un menor tiempo comparado con el método estándar. Se considera la implementación de estas pruebas a la rutina de detección en los laboratorios de microbiología, de acuerdo a las condiciones de cada laboratorio.

VI. CONCLUSIONES

- 6.1 Los resultados obtenidos determinaron una muy buena concordancia entre las tres pruebas de CAMP modificados como CAMP Disk, Strip CAMP y Spot CAMP frente al método de CAMP estándar obteniendo una concordancia diagnóstica de 1. Por lo cual, hubo validez diagnóstica de los métodos de CAMP modificados para la detección de *Streptococcus agalactiae* en un Hospital Materno-Infantil, Lima 2024.
- 6.2 La prueba del CAMP Disk Test obtuvo una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de 100% cada una de ellas en cotejo con la prueba de CAMP estándar. Estos resultados nos argumentan el buen rendimiento de la prueba.
- 6.3 La prueba del Strip CAMP Test obtuvo una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de 100% cada una de ellas en cotejo con la prueba de CAMP estándar. Estos resultados nos argumentan el buen rendimiento de la prueba.
- 6.4 La prueba del Spot CAMP Test obtuvo una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de 100% cada una de ellas en cotejo con la prueba de CAMP estándar. Estos resultados nos argumentan el buen rendimiento de la prueba.

VII. RECOMENDACIONES

- 7.1 Se sugiere la implementación de los métodos CAMP modificados para la detección de *Streptococcus agalactiae* en los laboratorios de rutina, ya que estos métodos poseen buena concordancia y desempeño, de fácil lectura e interpretación.
- 7.2 Los métodos de CAMP disk y Strip CAMP son métodos que detectan presuntivamente al microorganismo en un intervalo de tiempo de 18 a 24 horas. Parecido al método de CAMP estándar, aunque la ventaja de estos métodos sería utilizar la beta lisina estafilocócica lista y purificada, de esta manera, se evita el paso de sembrar una cepa ATCC de *S. aureus* y esperar 24 horas más para la obtención de las colonias estafilocócicas, luego recién poder realizar el método de CAMP estándar.
- 7.3 En el caso de presentar un medio de agar sangre de carnero con colonias aisladas sospechosas para *Streptococcus agalactiae*, se recomienda el uso del spot CAMP cerca de 1 o más colonias para la evaluación de la hemólisis sinérgica a partir de los 20 min hasta las 24 horas.
- 7.4 Asimismo, se sugiere evaluar una mayor población de diferentes tipos de *Streptococcus* según la clasificación de Lancefield, debido a que la prueba de CAMP nos permite discernir a *Estreptococos* del grupo B (EGB) de otras especies.
- 7.5 Evaluar los métodos de CAMP modificados con lotes de agar sangre preparadas. Consideremos factores que influyen en el desarrollo de la actividad enzimática del factor CAMP como concentración de sustrato, pH y la temperatura.
- 7.6 Por último, se recomienda guardar aislamientos de *S. agalactiae* en medio sólido de Agar TSA con forma de pico de flauta. La recuperación de las cepas en caldo BHI, luego de la siembra y dejándola incubar con un mínimo de 48h hasta 72h. Mejora la recuperación.

VIII. REFERENCIAS

- Abarzúa, F., Arias E., A., García C., P., Ralph T., C., Cerda L., J., Riedel K., I., y Gárate O., C. (2011). Aumento de resistencia de *Streptococcus agalactiae* vaginal-anal en el tercer trimestre de gestación a eritromicina y clindamicina al cabo de una década de tamizaje universal. *Revista Chilena de Infectología*, 28(4). <https://doi.org/10.4067/S0716-10182011000500005>
- Alós, JI, Andreu, A., Arribas Mir, L., Cabero, L., De Cueto, M., López, J., Melchor, JC, Puertas, A., De la Rosa, M., Salcedo, S., Sánchez, M., Sánchez, MJ y Torrejón, R. (2013). Prevención de la infección perinatal por estreptococo del grupo B. Recomendaciones españolas. Actualización 2012. Documento de consenso SEIMC/SEGO/SEN/SEQ/SEMFYC. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 31 (3), 159–172. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.03.013>
- Arias, G., Blengio, J. R., Brooks, G. F., Butel, Janet., Carroll, K. C., González, J. L., Mietzner, T. A., Morse, Stephen., y Pérez, A. M. (2010). *Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiología médica*. Mc Graw Hill.
- Arnold, M., y Valdés, D. (2023). Colonización genitourinaria por *Streptococcus agalactiae* y perfil de sensibilidad en mujeres gestantes. *Revista Médica Electrónica*, 45(4). <https://revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/5053>
- Artiles, F., Cañas, A., Álamo, I., y Lafarga, B. (2012). Fenotipos y mecanismos de resistencia a macrólidos y lincosamidas en aislados de *Streptococcus agalactiae* con significación clínica en un período de ocho años (2002-2010). *Revista Española de Quimioterapia*, 25(1). https://seq.es/wp-content/uploads/2009/12/seq.es_seq_0214-3429_25_1_artiles.pdf
- Ayers, H.S. y Rupp, P. (1922). Diferenciación de estreptococos hemolíticos de origen humano y bovino mediante la hidrólisis de hipurato de sodio, *The Journal of Infectious Diseases* , 30(4)

pp. 388-399. <https://doi.org/10.1093/infdis/30.4.388>

BioMérieux (2022). *El medio GRANADA™ ORIGINAL para el screening e identificación de estreptococos del Grupo B* [archivo PDF].

https://www.biomerieux.es/sites/subsidiary_es/files/0208_002es99129a_medio_granada_en_placa.pdf

.Campo, C. H., Martínez, M. F., Otero, J. C., y Rincón, G. (2019). Prevalencia de colonización vaginorrectal por *Streptococcus agalactiae* y su perfil de sensibilidad en mujeres embarazadas atendidas en un hospital de tercer nivel. *Biomédica: Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 39(4). <https://doi.org/10.7705/biomedica.4514>

Clinical y Laboratory Standards Institute. (15 de marzo del 2022). *M100—Estándares de rendimiento para pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos*, 32.^a edición.

<https://clsi.org/about/press-releases/clsi-publishes-m100-performance-standards-for-antimicrobial-susceptibility-testing-32nd-edition/>

Corrales, L. C. ., Caycedo, L. ., y Quijano, S. . (2022). Catalisis, enzimas y pruebas rápidas. *Revista Nova Publicación Científica En Ciencias Biomédicas*, 20(39), 121-150.

<https://doi.org/10.22490/24629448.6591>

CROMagar (2021). *CHROMagar™ Strep B* [archivo PDF]. [https://www.chromagar.com/wp-](https://www.chromagar.com/wp-content/uploads/2021/11/NT_EXT_033_V8.0.pdf)

[content/uploads/2021/11/NT_EXT_033_V8.0.pdf](https://www.chromagar.com/wp-content/uploads/2021/11/NT_EXT_033_V8.0.pdf) bio

CROMagar (2022). *CHROMagar orientation for isolation and differentiation of urinary tract copathogens* [archivo PDF]. [https://www.chromagar.com/wp-content/uploads/2021/11/LF-](https://www.chromagar.com/wp-content/uploads/2021/11/LF-EXT-002-V8.0.pdf)

[EXT-002-V8.0.pdf](https://www.chromagar.com/wp-content/uploads/2021/11/LF-EXT-002-V8.0.pdf)

De la Rosa, M. y De Cueto, M. (1 de septiembre de 1998). *Streptococcus agalactiae*. *Control de calidad SEIMC*. https://www.seimc.org/controldecalidadseimc/index.php?mn_MP=64&mn

[MS=11&mn MN=nivelapartado&expandable=0#](#)

- De la Rosa, M., Rodríguez, J., Pérez, M., y Sampedro, A. (2000). Uso del medio Granada y control de calidad de medios de cultivo. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* , 18 (8), 426–427. <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-uso-del-medio-granada-control-13239>
- DiPersio, J. R. , Barrett, J. E. , y Kaplan, R. L. (1985). Evaluation of Spot-CAMP for the Rapid Presumptive Identification of Streptococcus B. *American Journal of Clinical Pathology*, 84(2), 216–219. <https://doi.org/>, <https://doi.org/10.1093/ajcp/84.2.216>
- Filkins, L., Hauser, J., Robinson-Dunn, B., Tibbetts, R., Boyanton, B., y Revell, P. (2021). *Guidelines for the Detection and Identification of Group B Streptococcus*. Recuperado de <https://asm.org/guideline/guidelines-for-the-detection-and-identification-of>
- Guo, D., Xi, Y., Wang, S., y Wang, Z. (2019). Is a positive Christie-Atkinson-Munch-Peterson (CAMP) test sensitive enough for the identification of Streptococcus agalactiae? *BMC Infectious Diseases*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3561-3>
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, M. del P. (2014). *Metodología de la Investigación*. México D.F, México: MacGraw-Hill/Interamerican.
- Jaramillo, A., Cobo, C., Moreno, Y., y Ceballos-Márquez, A. (2018). Antimicrobial resistance of Streptococcus agalactiae of human and bovine origin. *Ces Medicina Veterinaria Y Zootecnia*, 13(1). <https://doi.org/10.21615/cesmvz.13.1.5>
- Jewes, L. A., y Jones, D. (1986). Rapid method for the detection of Group B streptococci from human sources. *Journal of Applied Bacteriology*, 61(3). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1986.tb04279.x>
- Jorgensen, JH, Pfaller, MA y Carroll, KC (2015) En Manual de microbiología clínica , págs. 383–

402. Washington ASM.

Kurosawa, M., Oda, M., Domon, H., Saitoh, I., Hayasaki, H. y Terao, Y. (2016). El factor CAMP de *Streptococcus pyogenes* atenúa la actividad fagocítica de las células RAW 264.7. *Microbes Infect.* 18, 118–127. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.10.003>

Leber, A.L. y Burnham, C.A. (2023). *Clinical Microbiology Procedures Handbook. Five Volume Set*, Editorial ASM press, <https://www.clinmicronow.org/doi/book/10.1128/9781683670438.CMPH>

Ledesma, Anel, Díaz Herrera, Dervel Felipe, Ribot Enrique, Ariel, Ramón Díaz, Dianis, Martínez Vasallo, Ailín, y Uffo Reinoso, Odalys. (2020). Detección de *Streptococcus agalactiae* a partir de muestras de leche cruda. *Revista de Salud Animal*, 42(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253570X2020000300009&lng=es&tlng=es.

Le Doare, K., y Heath, P. T. (2013). An overview of global GBS epidemiology. In *Vaccine*. (31),7-12. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.01.009>

Ligozzi, M., Bernini, C., Bonora, M. G., de Fatima, M., Zuliani, J., y Fontana, R. (2002). Evaluation of the VITEK 2 system for identification and antimicrobial susceptibility testing of medically relevant gram-positive cocci. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(5), 1681–1686. <https://doi.org/10.1128/jcm.40.5.1681-1686.2002>

Lopardo, H. (2016). *Cocos gram positivos catalasa negativos* [Archivo PDF]. <https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/ParteII.pdf>

López (2023). “Utilidad y eficacia de las pruebas diagnósticas para *Streptococcus agalactiae* en gestantes: Una revisión narrativa.” [Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/41fe1bd6-d699-46ee-a870->

[72d945270479/content](https://hdl.handle.net/20.500.13053/4249)

Lujan, C. M., y Francia, E. F. (2020). “*Utilidad del medio Chromagar orientation, para la identificación de Streptococcus agalactiae en urocultivos de gestantes en el hospital San Bartolome, enero 2016 a marzo 2019, Lima-Peru*” [Universidad Norbert Wiener]. <https://hdl.handle.net/20.500.13053/4249>

MacFaddin, J. F. (2004). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Madrid, España: Editorial Medica-Panamericana.

Mckee, T., y Mckee, J. R. (2003). *Bioquímica, Base Molecular De La Vida*. Mexico D.F, Mexico: MacGraw-Hill/Interamerican.

Moraleda, J. M. (2020). *Pregrado de hematología 4ª edición*. Recuperado de <https://booksmedicos.org/pregrado-de-hematologia-4a-edicion/>

Müggenburg, V. y Pérez, I. (2018). Tipos de estudio en el enfoque de investigación cuantitativa. *Enfermería Universitaria*, 4(1). <https://doi.org/10.22201/eneo.23958421e.2007.1.469>

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., y Pfaller, M. A. (2021). *Microbiología médica Novena Edición*. Madrid, España: Elsevier España, S.L.U.

Morgan, J.A., Zafar, N. y Cooper, D.B. (24 de Julio del 2023). Estreptococo del grupo B y embarazo. *frStatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482443/>

Nauto, E. J. (2019). Streptococcus agalactiae en gestantes de 35 a 37 semanas que acuden a control prenatal en el Instituto Nacional Materno Perinatal. *Revista Peruana de Investigación Materno Perinatal*, 8(4). <https://doi.org/10.33421/inmp.2019170>

Organización Mundial de la Salud (2 de noviembre de 2021). Necesidad urgente de vacunas para prevenir la infección letal por estreptococo del grupo Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/es/news/item/02-11-2021-urgent-need-for-vaccine-to-prevent-deadly->

[group-b-streptococcus](#)

- Ortega, L.M. (2010). Enterococos: actualización. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 9(4), pp. 507-515. <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v9n4/rhcm10410.pdf>
- Paoletti, L. C., y Kasper, D. L. (2019). Surface Structures of Group B Streptococcus Important in Human Immunity. *Microbiology Spectrum*, 7(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0001-2017>
- PathoDx (2016). *Identificación de los grupos de estreptococos* [archivo PDF]. https://assets.fishersci.com/TFS-Assets/MBD/Instructions/X7773ES.pdf?_ga=2.113252487.1458931735.1729105935-2096725143.1728312289
- Podbielski, A., Blankenstein, O., y Lütticken, R. (1994). Molecular characterization of the cfb gene encoding group B streptococcal CAMP-factor. *Medical microbiology and immunology*, 183(5), 239–256. <https://doi.org/10.1007/BF00198458>
- Pulido, A., y Soto, J. (2019). Incremento de aislamientos de Streptococcus agalactiae en cultivos de orina en un hospital materno-infantil de Lima, Perú. *Anales de La Facultad de Medicina*, 80(2). <https://doi.org/10.15381/anales.802.16427>
- Pulido, A. (2020). *Caracterización molecular de genes de virulencia en Streptococcus agalactiae de aislados clínicos de dos instituciones de salud, Lima, Perú* [Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/15700>
- Pulido, A., y Soto, J. (2022). Susceptibilidad antimicrobiana de Streptococcus agalactiae en un hospital materno-infantil de Lima, Perú. 2015-2020. *Revista Medica Herediana*, 33(3). <https://doi.org/10.20453/rmh.v33i3.4340>
- Pulido, A., Soto, J., Valencia, E., y Zavaleta, M. (2021). Caracterización molecular de genes de virulencia (lmb, bca y rib) y de resistencia a macrólidos (ermB, ermTR y mefA) en

aislamientos clínicos de *Streptococcus agalactiae*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 38(4). <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.384.8726>

Rajagopal, L. (2009). Comprensión de la regulación de los factores de virulencia de los estreptococos del grupo B. *Future Microbiol.* 4, 201–221. <https://doi.org/10.2217/17460913.4.2.201>

Rothen, J., Pothier, J. F., Foucault, F., Blom, J., Nanayakkara, D., Li, C., Ip, M., Tanner, M., Vogel, G., Pflüger, V., y Daubenberger, C. A. (2019). Subspecies typing of *Streptococcus agalactiae* based on ribosomal subunit protein mass variation by MALDI-TOF MS. *Frontiers in microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00471>

Verani, J., McGee, L. y Schrag, S. (19 de noviembre de 2010). Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease Revised Guidelines from CDC, 2010. *Centers for Disease Control and Prevention*. <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5910a1.htm>

Wilkinson, H. W. (1977). CAMP-Disk Test for Presumptive Identification of Group B Streptococci. *Journal of Clinical Microbiology* 6(1),42-45. <https://journals.asm.org/journal/jcm>

Zárate, M. S., Jordá Vargas, L., Pacheco, M. V., Fernández Canigia, L., y Smayevsky, J. (2005). Modified spot CAMP test: A rapid, inexpensive and accurate method for identification of group B streptococci. *Revista Argentina de Microbiología*, 37(3). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16323659/>

Zhou, J., Zhang, L., Zhang, Y., Liu, H., Xu, K., Zhang, B., Feng, T., y Yang, S. (2023). Analysis of molecular characteristics of CAMP-negative *Streptococcus agalactiae* strains. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1189093>

IX. Anexos

Anexo A

Matriz de Consistencia

Planteamiento del problema	Objetivos de estudio	Variable de estudio	Dimensiones	Indicadores	Categoría	Diseño de investigación
<p>Problema General: ¿Cuál es la validación de métodos de CAMP modificados para la detección de Streptococcus agalactiae, agalactiae aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno- Infantil, Lima 2024?</p> <p>Problemas Específicos: ¿Cuál es la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de CAMP Disk Test, en comparación con el método de CAMP estándar,</p>	<p>Objetivo General: Determinar la validez diagnóstica de métodos de CAMP modificados para la detección de Streptococcus agalactiae aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno- Infantil, Lima 2024.</p> <p>Objetivos específicos: Determinar la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de CAMP Disk Test, en comparación con el método CAMP</p>	Prueba de CAMP modificados	CAMP estándar CAMP Disk Strip CAMP Spot CAMP	Sensibilidad, Especificidad, Valor predictivo positivo(VPP), Valor predictivo negativo(VPN).	- Positivo - Negativo	<p>Niveles de estudio Diseño observacional, de enfoque cuantitativo, tipo transversal descriptivo.</p> <p>Diseño de estudio: No experimental.</p> <p>Muestra: conformada por 52 aislados de EGB (Streptococos</p>

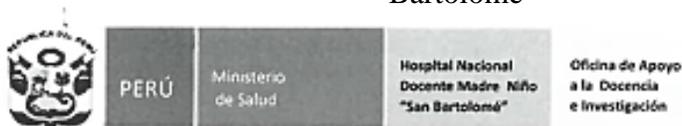
<p>para la detección de Streptococcus agalactiae aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno Infantil, Lima 2024?</p>	<p>estándar, para la detección de Streptococcus agalactiae aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno Infantil, Lima 2024.</p>					<p>del grupo B) aislados de muestra de orina y 17 cepas entre Enterococcus faecalis, faecium,y, y avium y 1 cepa de Streptococcus dysgalactiae aislados de muestras de orina, sangre y secreción provenientes de una población adulta atendidas en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé (HONADOMANI San Bartolomé).</p>
<p>¿Cuál es la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de CAMP Strip Test, en comparación con el método de CAMP estándar, para la detección de Streptococcus agalactiae aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno Infantil, Lima 2024?</p>	<p>Determinar la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de CAMP Strip Test, en comparación con el método CAMP estándar, para la detección de Streptococcus agalactiae en aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno Infantil, Lima 2024.</p>					
<p>¿Cuánto es la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de Spot CAMP Test, , en comparación con el método de CAMP estándar, para la detección de Streptococcus agalactiae aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno Infantil, Lima 2024?</p>	<p>Determinar la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de Spot CAMP Test, en comparación con el método CAMP estándar, para la detección de Streptococcus agalactiae en aislados de orina provenientes de pacientes atendidas en un Hospital Materno Infantil, Lima 2024.</p>					

Anexo C**Escala de valoración del índice Kappa (k). (Landis y Koch)**

Valor de Kappa	Fuerza de concordancia
< 0,00	No concordancia
0.00 – 0.20	Concordancia muy débil
0.21 – 0.40	Concordancia débil
0.41 – 0.60	Concordancia moderada
0.61 – 0.80	Concordancia buena
0.81 – 1.00	Concordancia muy buena

Anexo D

Carta de Aprobación de Estudio en el Hospital Nacional Docente Madre Niño “San Bartolomé”



"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

Lima, 27 de noviembre de 2024

OFICIO N° 885-2024-OADI-HONADOMANI-SB

GUIANELA ALVARADO ALDERETE
Investigadora Principal
Presente.-

Referencia: CARTA N°00027-CIEI-UI-HONADOMANI-SB-2024
Expediente N° 09509-24

Tengo el agrado de dirigirme a usted para saludarla cordialmente y en relación al Proyecto de Investigación titulado: *"Rendimiento del Método Convencional de Camp y los Métodos de Camp Modificados para la Detección de Streptococcus Agalactiae en Muestras de Orina Procesados en un Hospital Materno Infantil, Lima 2023"*.

Al respecto, se informa lo siguiente:

Es un estudio de retrospectivo, transversal, observacional, analítico.

Las observaciones ha sido levantadas correctamente, así mismo el Comité de Investigación y el Comité Institucional de Ética en Investigación toma conocimiento y aprueba el cambio de título por:

"VALIDACIÓN DE CAMP MODIFICADOS PARA LA DETECCIÓN DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE, HOSPITAL MATERNO INFANTIL, LIMA 2024".

Conclusiones:

El Comité de Investigación del HONADOMANI "San Bartolomé" y el Comité Institucional de Ética en Investigación, aprueban de manera expedita el proyecto con **Exp. N° 09509-24**.

Hago propicia la oportunidad para renovar los sentimientos de nuestra consideración y estima personal.

Atentamente.

MINISTERIO DE SALUD
HONADOMANI "SAN BARTOLOME"
M.C. ALFONSO UGARTE GARCIA
Jefe de Oficina de Apoyo a la Docencia e Investigación
CMP. 23132 R.M.F. 13386



ARG/MAA/GMA/vma
cc. archivo