



UNIVERSIDAD NOBERT WIENER

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGIA MEDICA EN LABORATORIO

CLINICO Y ANATOMIA PATOLOGICA

**“UTILIDAD DEL MEDIO CHROMAGAR ORIENTATION, PARA LA
IDENTIFICACION DE *Streptococcus agalactiae* EN
UROCULTIVOS DE GESTANTES EN EL HOSPITAL SAN
BARTOLOME, ENERO 2016 A MARZO 2019, LIMA – PERU**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE LICENCIADA EN TECNOLOGÍA
MÉDICA EN LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA.**

Presentado por:

Bachiller: Pérez Lujan, Carolina Marisol

Francia Salvador, Erika Frida

LIMA – PERÚ

2020

Dedico este trabajo:

A Dios, por la vida y a mi familia por todo su apoyo.

A mis padres por ser mi inspiración y mi motivación diaria.

Agradezco a:

A todo el equipo de microbiología del Hospital San Bartolomé en especial al Lic. Javier Soto por las facilidades brindadas en este estudio. Nuestros Co asesores que nos apoyaron en todo el desarrollo de tesis como el Lic. Jell Moya.

A nuestra asesora la Dra. Oriana Rivera quien permitió que pudiéramos hacer posible nuestra tesis, brindándonos toda su experticia y asesoramiento desde el primer día, queremos darle nuestro mayor nuestro agradecimiento.

ASESOR DE TESIS

Dra. ORIANA RIVERA LOZADA DE BONILLA

JURADOS

DR. MARTIN CABELLO

DR. JESSICA ASTETE

MG. VICTOR HUAMAN

INDICE

CAPÍTULO I:	1313
1.1. Planteamiento del Problema	¡Error! Marcador no definido.13
1.2. Formulación del Problema.....	¡Error! Marcador no definido.5
1.3. Justificación	¡Error! Marcador no definido.6
1.4. Objetivo	¡Error! Marcador no definido.7
1.4.1. General.....	¡Error! Marcador no definido.7
1.4.2. Específico	¡Error! Marcador no definido.7
CAPÍTULO II	1919
2.1. Antecedentes	¡Error! Marcador no definido.19
2.2. Base Teórica.....	¡Error! Marcador no definido.22
2.11. Hipótesis	¡Error! Marcador no definido.35
2.12. Variables e indicadores	¡Error! Marcador no definido.35
2.13. Definición operacional de términos	¡Error! Marcador no definido.36
CAPÍTULO III:	5639
3.1. Tipo de investigación	¡Error! Marcador no definido.39
3.2. Ámbito de Investigación	39
3.3. Población y muestra	¡Error! Marcador no definido.39
3.3.1. Población	¡Error! Marcador no definido.40
3.3.2. Muestra	¡Error! Marcador no definido.40
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	¡Error! Marcador no definido.41
3.5. Plan de procesamiento y análisis de datos.....	¡Error! Marcador no definido.42
3.6. Aspectos éticos.....	¡Error! Marcador no definido.43
CAPÍTULO IV:.....	6244
4.1 Resultados	6244
4.2 Discusión.....	¡Error! Marcador no definido.60
CAPÍTULO V:.....	7063
5.1. Conclusión	7063
5.2. Recomendaciones	7065
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	¡Error! Marcador no definido.66
ANEXOS.....	¡Error! Marcador no definido.70

ÍNDICE DE TABLAS

TABLAS

Pág.

Tabla 1

Resultados descriptivos de gestantes del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé 2016-2019.

63

Tabla 2

Rendimiento diagnóstico del CHROMagar orientation para el aislamiento de *S. agalactiae* en gestantes del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, 2016-2019.

64

INDICE DE GRÁFICOS

FIGURA	Pág.
Figura 1 Distribución de muestras para urocultivo en gestantes del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé 2016-2019. Datos en N	60
Figura 2 Distribución de aislamientos en urocultivo en gestantes del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé 2016-2019. Datos en N	61
Figura 3 Distribución de aislamientos de <i>S. agalactiae</i> con el CHROMagar orientation en gestantes del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé 2016-2019. Datos en N	62
Figura 4 Aislamientos de <i>S. agalactiae</i> con el CHROMagar orientation y Vitek (casos confirmados) en gestantes en Lima. Datos en %	62

Resumen

Introducción: El *Streptococcus agalactiae* es el principal causante de infección en mujeres gestantes pudiendo ocasionar abortos. El objetivo de este estudio fue determinar la utilidad diagnóstica, en términos de sensibilidad y especificidad del medio CHROMagar orientation, para la identificación de *S. agalactiae* en urocultivos de gestantes en el Hospital San Bartolomé, enero 2016 a marzo 2019, Lima-Perú.

Materiales y Métodos: Se diseñó un estudio retrospectivo de corte trasversal en pacientes gestantes hospitalizadas o ambulatorias atendidas que tuvieron urocultivos positivo a *S. agalactiae*. Se usó el agar CHROMAGAR ORIENTATION y el sistema Vitek como método estándar. Se determinaron las pruebas diagnósticas para determinar sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) y el índice de correlación Kappa. **Resultados:** El grupo etario más frecuente fue el de 31 a 40 años con 70.8 y 82.5% pertenecieron al tercer trimestre gestacional. Se incluyeron 36600 muestras de orina, 6626 aislamientos de los cuales 372 (5.6%) fueron *S. agalactiae*. Determinamos una sensibilidad de 55.4% (IC95% 50.3 a 60.3), una especificidad de 99.9% (IC95% 98.8 a 100), un VPP de 97.2% (IC95% 94 a 98.7), un VPN de 97.4% (IC95% 97 a 97.8), y una concordancia buena ($\kappa=0.70$). **Conclusión:** Se determinó utilidad diagnóstica, con moderada sensibilidad y alta especificidad del medio CHROMAGAR ORIENTATION, para la identificación de *S. agalactiae* en urocultivos de gestantes en el Hospital San Bartolomé, enero 2016 a marzo 2019, Lima-Perú.

Palabras claves: urocultivo, *Streptococcus agalactiae*, agar cromogenico, Perú

Abstract

Introduction: *Streptococcus agalactiae* is the main cause of infection in pregnant women and can cause abortions. The goal of this study was to determine the diagnostic utility, in terms of sensitivity and specificity of the CHROMagar orientation medium, for the identification of *S. agalactiae* in urine cultures of pregnant women at Hospital San Bartolomé, January 2016 to March 2019, Lima-Peru. **Materials and Methods:** A prospective cross-sectional study was designed in pregnant women hospitalized or outpatients treated with positive urine cultures for *S. agalactiae*. CHROMAGAR ORIENTATION agar and the Vitek system were used as the standard method. Diagnostic tests were determined to determine sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) and the Kappa correlation index. **Results:** The most frequent age group was 31 to 40 years old, with 70.8 and 82.5% belonging to the third gestational trimester. 36600 urine samples were included, 6626 isolates of which 372 (5.6%) were *S. agalactiae*. We determined a sensitivity of 55.4% (95% CI 50.3 to 60.3), a specificity of 99.9% (95% CI 98.8 to 100), a PPV of 97.2% (95% CI 94 to 98.7), a NPV of 97.4% (95% CI 97 to 97.8), and a good agreement ($\kappa=0.70$). **Conclusion:** Diagnostic utility was determined, with moderate sensitivity and high specificity of the CHROMAGAR ORIENTATION medium, for the identification of *S. agalactiae* in urine cultures of pregnant women at Hospital San Bartolomé, January 2016 to March 2019, Lima-Peru.

Key words: urine culture, *Streptococcus agalactiae*, chromogenic agar, Peru

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

1. EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

El *Streptococcus agalactiae* también denominado *Streptococcus β*-hemolítico del grupo B (EGB), es agente etiológico de un amplio espectro de infecciones, siendo un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, saprofita del tracto gastrointestinal y urogenital humano, pero relevante en aislamientos de gestantes pre-termino, por su alta riesgo de transmisión vertical (1,2).

Según lineamientos internacionales, se deben de enfocar los esfuerzos para su aislamiento dentro de las 35 y 37 semanas de gestación a través de un cultivo de muestras anales por hisopado o de la secreción vaginal. Estas consideraciones son aplicables a embarazos que no hayan reportado aislamientos previos de EGB en orina, o con antecedentes de parto previo con enfermedad invasiva o riesgo de aborto (3). La implicancia de esta bacteria en este grupo poblacional de alto riesgo ha sido motivo de diferentes estudios previos, que han demostrado el riesgo de aborto espontáneo, ruptura prematura de membranas, endometritis e infección neonatal (3-5).

En el Perú, estudios previos han determinado EGB en mujeres portadoras durante la gestación, sin embargo, estos no han centrado su análisis en otros sitios de infección (como la colonización urinaria y las infecciones en este sistema) (1,2). Para considerar iniciar la profilaxis antibiótica intraparto (PAI) es necesario el aislamiento de EGB de los urocultivos en cualquier trimestre, sin un mínimo de recuento bacteriano e independientemente del cribado de la semana 35-37 (4). En ese sentido, la importancia del reporte de EGB es crucial para evitar complicaciones.

Debido a que las infecciones por EGB afectan a un grupo poblacional susceptible, debe de considerársele como un posible problema de salud pública, que necesita la implementación de estrategias y políticas sanitarias para la vigilancia, prevención y control de EGB. La normativa actual establece que la prevención de infección neonatal por estos agentes (independientemente del recuento bacteriano) deben iniciar terapia profiláctica intraparto con penicilina. Esto independientemente de los aislamientos microbiológicos de EGB en muestras vaginorectales durante las últimas semanas de gestación. Estas normatividades también pueden realizarse en población femenina general, especialmente en >60 años con factores predisponentes o comorbilidades (6).

Para cumplir con estos objetivos sanitarios es necesario que los estudios microbiológicos tengan eficiencia en el reconocimiento de EGB, ya que de esto dependen en parte, las actividades de tratamiento y manejo inicial clínico sobre las gestantes. Frente a esta problemática microbiológica sobre el aislamiento de EGB en urocultivo nos planteamos el siguiente

problema de investigación. Antes esta problemática nos planteamos el siguiente problema de investigación:

1.2. Formulación del problema

¿Cuál es la utilidad diagnóstica, en términos de sensibilidad y especificidad 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?

1.2.1 Problemas específicos

1. ¿Cuál es el valor Predictivo positivo 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?
2. ¿Cuál es el valor Predictivo Negativo 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?
3. ¿Cuál es la frecuencia de *Streptococcus agalactiae* en urocultivos de gestantes en el Hospital San Bartolomé, enero 2016 a marzo 2019, Lima-Perú?

1.3 Justificación

El aislamiento de *S. agalactiae* de muestras séricas y otros fluidos corporales estériles, no presenta dificultad. Sin embargo, en áreas donde existe microbiota, como en el tracto urinario el aislamiento o reconocimiento de *S. agalactiae* se dificulta por un crecimiento más rápido y abundante de otros microorganismos (7). Convencionalmente se recomienda el uso de agar sangre y MacConkey durante el urocultivo (8), con alternativas de uso del medio CLED (cisteína, lactosa, deficiente en electrolitos) con alta frecuencia en países europeos (9,10).

El agar MacConkey siendo un medio selectivo para Gram negativos, no es un medio adecuado para *S. agalactiae*, mientras el agar sangre permite el crecimiento de esta bacteria, pero presenta dificultad en el reconocimiento de *S. agalactiae* en los recuentos bajos de colonias, ya que la hemólisis en este medio es muy débil y además algunas cepas pueden ser no hemolíticas. (11) El agar sangre de carnero es el medio de recuperación inicial óptima para el aislamiento de bacterias en general, y específicamente durante el urocultivo donde facilita la diferenciación bacteriana durante la recuperación de especies, como los *Proteus* que tienen un carácter invasor (12,13). Por su parte el medio MacConkey y CLED imposibilitan la invasión por *Proteus spp.*, aunque su capacidad diferencial es mínima, ya que ambos sólo distinguen colonias lactosa positivas de las no fermentadoras. (14)

Por su parte el uso de los medios cromogénicos permite evaluar mejor la flora mixta (contaminante) y aislar e identificar de manera más rápida y

presuntiva a *S. agalactiae* en los urocultivos. Estos utilizan sustratos cromogénico procedentes de hidroxilo lo que permite que la colonia sea coloreada (por precipitación intracelular de los cromóforos formado por oxidación del hidroxilo liberado a partir del sustrato por acción enzimática) y que el medio permanezca invariable. Por tal razón, estos sistemas pueden detectar cultivos mixtos, incluso con microorganismos de muy baja cantidad como es frecuente en urocultivo con el desarrollo simultaneo de *Escherichia coli* y *Enterococcus spp* (15).

Por lo tanto, la identificación rápida y exacta de *S. agalactiae* por medios cromogénicos, como el CROMagar Orientation, en pacientes gestantes con infección o colonización urinaria permitiría al médico tratar a los pacientes para prevenir la colonización y luego la infección en el recién nacido (sepsis, meningitis y neumonía) en el momento del parto y además complicaciones para sendos la madre y el feto (16). La utilidad de este estudio también radica en el entendimiento teórico del desarrollo de *S. agalactiae* sobre un medio cromogénico que presenta sus propias características bioquímicas y metabólicas. El aporte social del presente estudio recae en la facilidad, rapidez y exactitud diagnóstica en la determinación de infecciones de tracto urinario causados por *S. agalactiae* en mujeres embarazadas, donde se requiere un adecuado manejo con la finalidad de evitar dificultades en sendos la salud del feto y de la madre.

1.4. Objetivo

1.4.1. General

Determinar la utilidad diagnóstica, en términos de sensibilidad y especificidad 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

1.4.2. Específico

1. Establecer el valor Predictivo positivo 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.
2. Describir el valor Predictivo Negativo 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.
3. Establecer la frecuencia de *Streptococcus agalactiae* en urocultivos de gestantes en el Hospital San Bartolomé, enero 2016 a marzo 2019, Lima-Perú.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Mohammad R, et al., 2012 (17), en Irán el año realizaron un estudio denominado “Urinary Tract Infections Caused By Group *B Streptococcus* in Adult Women” los autores refieren que la frecuencia de *S. agalactiae* no ha sido completamente investigada en el tracto urinario de las mujeres embarazadas y no embarazadas en Irán, también determinaron la frecuencia de los estreptococos del grupo B en pacientes de sexo femenino. Se estudiaron un total de 11800 muestras de orina que fueron recibidas de pacientes externos femeninos durante junio hasta diciembre de 2010. Las cepas de estreptococos del grupo B fueron confirmados por la típica morfología de las colonias, e identificados por pruebas diferenciales, así como por las características de crecimiento en CHROMagar, en el caso de las pruebas de sensibilidad se llevaron a cabo por el método de disco difusión. Un diagnóstico de infección del tracto

urinario (ITU) se definió por la presencia de Estreptococos del grupo B (> 105 UFC/litro) con al menos uno de los síntomas de ITU, Los resultados mostraron que 498 muestras (4,22%) causaron bacteriuria significativa producida por Estreptococos del grupo B. Las pacientes embarazadas fueron 3,82% y el resto eran no embarazadas. La prueba de susceptibilidad a los antibióticos reveló que la vancomicina, clindamicina y cefazolina tenía la más baja tasa de resistencia y la penicilina mostró la tasa más alta sobre el manejo de la bacteriuria estreptocócica del grupo B.

Toapanta M, et al., 2015 (18), Ecuador realizó un Artículo llamado Prevalencia y Factores Asociados a Colonización por Streptococcus agalactiae en Mujeres Gestantes entre 35 y 37 Semanas del Hospital “José Carrasco Arteaga”. Su estudio fue de tipo prospectivo, transversal analítico de prevalencia y factores asociados, se estudiaron 88 pacientes gestantes de 35 y 37 semanas que dieron su consentimiento, la muestras que obtenidas para su cultivo fueron de la vagina y del esfínter anal , en este estudio decidieron utilizar un caldo de enriquecimiento que mejora la detección sustancialmente, debido a que cuando se usan directamente placas de agar, en lugar del caldo de enriquecimiento selectivo, existe el riesgo de que hasta un 50% de las mujeres que son portadoras del EGB tengan cultivos falsos negativos. La lectura fue de la siguiente manera, no poder identificar ninguna colonia, era catalogado como un cultivo negativo para EGB. En caso de colonias sospechosas fueron identificadas con las

pruebas de CAMP, catalasa y para su identificación definitiva se usó la prueba de aglutinación en látex. Como conclusión obtuvieron que la prevalencia muestra tendencia a la asociación entre la edad, nivel de instrucción, presencia de vaginitis a repetición y más de 2 parejas sexuales con la existencia de EGB en cultivos, pero sin demostrar significancia estadística.

Sabater et al., 2009 (19) en Castellón, España, realizó un estudio titulado “utilización del medio CROMagar orientation en la detección de *Streptococcus agalactiae* en gestantes” procesaron 1003 muestras (186 vaginales y 817 rectovaginales, pertenecientes a 1003 mujeres. Se aislaron EGB en 205 embarazadas. Del total de EGB detectados 178 se aislaron en agar sangre y 194 en agar CROMagar. El CROMagar mostro una sensibilidad del 94.6% frente a un 86.8% del agar sangre para a la detección de EGB. Concluyen que el CROMagar Orientation es un medio eficiente para el aislamiento de EGB en muestra de mujeres embarazadas y que este puede ser incluido dentro del algoritmo de trabajo del laboratorio de microbiología.

Álvarez et al (20), en Cuba realizó un estudio denominado “Colonización recto/vaginal por *Streptococcus agalactiae* en gestantes cubanas”, estudio de tipo descriptivo transversal, los autores presentaron como objetivos determinar la prevalencia de *Streptococcus*. Usando como

método para demostrar la colonización se cultivaron hisopados vaginales y rectales en caldo Todd Hewitt y agar sangre y aplicaron la técnica D-test para el estudio de la susceptibilidad a Eritromicina y clindamicina de los aislamientos recuperados, también se pudo identificar la presencia de otros factores Gineco obstétricos de sepsis neonatal precoz. Se obtuvo como prevalencia de colonización por *S. agalactiae* 21,1 % mientras que el 44,4 % de los aislamientos expresaron resistencia a Eritromicina y clindamicina y predominó el fenotipo M (22,2 %). Además, se identificó como el factor de riesgo de mayor prevalencia la rotura prematura de membranas (11,1 %).

Blanco et al., 2018 (21) en Nicaragua en el publicaron una tesis titulada, Prevalencia y Factores asociados a la colonización de *Streptococcus* beta hemolítico grupo B en gestantes mayores de 35 semanas atendidas en el Hospital Alemán Nicaragüense en el departamento de Gineco-Obstetricia en el periodo 2017, Su estudio fue descriptivo, no experimental, corte transversal, prospectivo, las características de este estudio fueron que se observó que el 69% de las gestantes tenía entre 20-34 años, en nivel de educación fue el 68% secundaria completa. La muestra obtenida fue vaginal y ano rectal, se sembraron en el medio Granada para el *Streptococcus* beta hemolítico del grupo B produce colonia rojo-naranja específicas (100%) del patógeno al formar un isoprenoide inducido por acción de metrotexato las cuales se incubaron por 18 a 24 horas a 35-37 °C. De acuerdo a los resultados obtenidos de pacientes que presentaron

colonización por EGB se puede observar que de los 36 casos positivos 16 neonatos fueron ingresados por sepsis temprana y 3 como neumonía congénita. Y según los datos sociodemográficos y gestacionales de las pacientes estudiadas (edad, paridad, abortos, ruptura prematura de membrana, parto prematuro, I.T.S, leucorrea e I.V.U) se encontró que la presencia o ausencia de estos no difieren entre las pacientes colonizadas y no colonizadas.

Campo et al. (22) en Colombia el año 2019 se realizó un estudio de “Prevalencia de colonización vagino-rectal por *Streptococcus agalactiae* y su perfil de sensibilidad en mujeres embarazadas atendidas en un hospital de tercer nivel”. Este estudio fue descriptivo, teniendo como objetivo establecer la prevalencia y su perfil de sensibilidad, para ello se muestrearon 121 mujeres gestantes a las cuales se les tomo un hisopado vaginal y uno de la región ano-rectal, fueron cultivados directamente en caldo selectivo Todd-Hewitt suplementado con antibióticos y se incubaron durante 18 a 24 horas a 37° en aerobiosis. Posteriormente, se realizaron cultivos en medio cromogénico chromID™ Strepto B y en Agar sangre al 5%, las placas se incubaron de 18-24 horas, en atmósfera aeróbica y protegido de la luz. Consideraron colonias sugestivas de EGB las que presentaron color rosa pálido o rojo en el medio cromogénico y/o colonias medianas-pequeñas β -hemolíticas en agar sangre, confirmándose con la tinción de Gram, prueba de catalasa y CAMP usando *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y panel de pruebas bioquímicas automatizadas. Los

autores concluyeron que la prevalencia vagino-rectal de *S. agalactiae* fue 20.6% obteniéndose aislamientos resistentes a la penicilina y resistencia a macrólidos y lincosamidas.

Álvarez-Santás et al. (23) en España el 2018 publicaron un estudio de “Tasas de colonización por *Streptococcus agalactiae* en gestantes españolas y extranjeras en el Hospital Universitario de Fuenlabrada” en donde tenían como objetivo determinar si la colonización vagino-rectal por *Streptococcus agalactiae* en embarazadas varía ampliamente según las áreas geográficas de procedencia y conocer las tasas de colonización por *S. agalactiae*, en aislados de exudados vagino-rectales (EVR) como en orina. Su estudio fue de tipo retrospectivo y para ello se estudiaron a 6,053 gestantes entre los años 2012 a 2014, trabajaron con (EVR) y urocultivos. Las orinas se sembraron en medio cromogénico hasta el 2013 y se colonias pequeñas de color violeta, sospechosas de ser *S. agalactiae*, se confirmaron mediante una prueba de aglutinación en partículas de látex específica. Y en las bacteriurias significativas (aislados únicos de *S. agalactiae* con más de 10.000 UFC/ml) se identificaron los *S. agalactiae* mediante el sistema automatizado VITEK 2 en conjunto con su antibiograma. En el año siguiente fueron sembradas en agar CLED aislando colonias sospechosas que se comprobaron mediante la misma prueba de aglutinación. Los EVR se subcultivaron en agar sangre con colistina y ácido nalidíxico durante 18-24 h. a 37° C en atmósfera de CO₂. Las colonias beta-hemolíticas observadas fueron confirmadas mediante

aglutinación específica. Los resultados de este estudio fueron que la colonización global de las gestantes extranjeras es más elevada que la de las españolas, excepto en las que son procedentes de Asia. La elevada tasa puede deberse en parte a que se han contabilizado los EGB aislados en urocultivos.

Scarpato et al. (24) en Nicaragua el 2002, realizaron el estudio titulado “Evaluación comparativa de dos medios cromogénicos comerciales para la detección e identificación presuntiva de patógenos del tracto urinario” donde compararon los agares cromogénicos CPS ID2 (bioMérieux, Francia) y la CHROMagar orientation (BBL Becton Dickinson, EE. UU.) en 925 muestras de orina. Demostraron que, de los 1021 aislamientos, 36 correspondieron a *Streptococcus agalactiae* siendo determinados en ambos medios cromogénicos con $\geq 10^5$ UFC/ml en comparación con los aislamientos del agar CLED. Para el CHROMagar orientation todas las colonias fueron azul claro, con forma de alfiler. Los autores concluyeron que los medios de orientación CPS ID2 y CHROMagar permitieron una excelente detección, determinación de recuento e identificación presuntiva de patógenos urinarios, tanto en cultivos puros como mixtos, y pruebas confiables y precisas de susceptibilidad antimicrobiana directamente de aislamientos primarios.

2.2. Base teórica

2.2.1. Sistema unitario

El sistema urinario, corresponde a uno de los principales sistemas orgánicos de los 24 sistemas presentes, que en sus conjunto constituye un órgano de filtración orgánica a través de la formación y evacuación de la orina.

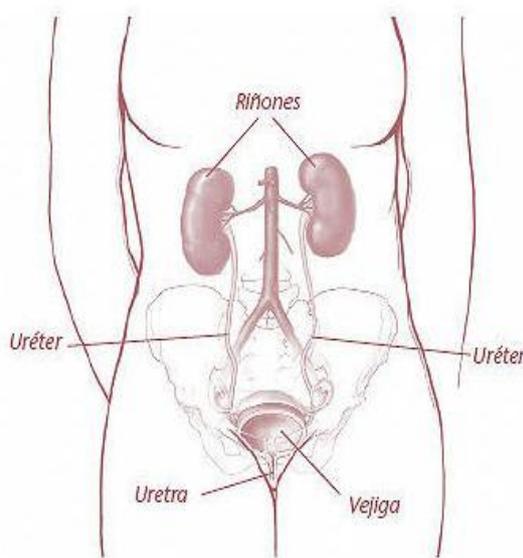


Figura 1. Aparato urinario normal y sus partes.

Tomado de: <http://www.piso-pelviano.com.ar/>

Los constituyentes de este sistema incluyen los riñones (que se encargan de la producción de orina), las pelvis renales, que son partes sobresalientes del riñón conformando los uréter, hasta la vejiga urinaria donde se acumula la orina hasta su evacuación fuera del cuerpo (eliminando sustancias tóxicas nocivas para el organismo) (25). El proceso de filtración se realiza en el complejo glomerular donde a través de las gradientes de concentración se eliminan componentes tóxicos para el organismo, también componentes orgánicos funcionales que son reabsorbidos en los conductos de conducción urinaria, como el túbulo

colector o túbulo proximal contorneado, así logrando la homeostasis sanguínea (26).

2.2.2. El Embarazo

El embarazo es el proceso iniciado en la concepción que tiene como objetivo el desarrollo fisiológico y orgánico del feto durante 36 semanas, para su correcto nacimiento a través del parto. Para que este proceso pueda sostenerse la mujer está dotada de un periodo de fertilidad (desde la menarca hasta la involución hormonal-mantenida durante la menopausia), con lo cual puede ser fértil mensualmente. La producción mensual de los ovocitos posibilita a este grupo poblacional al poder reproducirse luego de la concepción. Por el contrario, cuando no existe fecundación los ovocitos están programados para una destrucción progresiva y organizada a través del periodo menstrual normal (27). El embarazo para fines de evaluación clínica puede ser organizado en tres trimestres desde la concepción hasta el parto, con características intrínsecas de cada etapa.

2.2.2.1. El Embarazo: Primer Trimestre Este periodo es inicial. Ocasionalmente cursa con alteraciones fisiológicas que pueden dar indicios de un proceso embriológico y del afianzamiento como parte de los organismos de la madre, con los cambios inmunológicos, nutricionales, metabólicos y fisiológicos. Durante esta etapa la mujer sufre cambios corporales que pueden ser verificados durante

las evaluaciones clínicas y biológicas. Los primeros indicios de embarazo son retraso en el periodo menstrual y cambios corporales (astenia, hipersensibilidad mamaria, etc.).

En esta fase se forma la placenta y los anexos, se inicia la producción del líquido amniótico (27). En este periodo el embrión progresa su desarrollo de células cigotales hacia blástula, y luego a la división de estructuras orgánicas a partir de las tres capas embrionarias. Luego de este periodo de desarrollo comienza el crecimiento del feto (8 cm de longitud) con una progresiva evidencia de los órganos en las pruebas de imágenes, donde se pueden discriminar los órganos conforme las semanas gestacionales (28).

2.2.2.2. El Embarazo: Segundo Trimestre: Durante este periodo, cesan las consecuencias orgánicas de malestar fisiológico de la madre. Sin embargo, se acrecientan otras sintomatologías como el estreñimiento, otros problemas digestivos. En esta etapa se el desarrollo pleno de la placenta, así como la maduración de los sistemas del feto, así al término del trimestre el feto llega a medir >19 cm de longitud. El desarrollo de los órganos es tal que se comienza la hematopoyesis, el desarrollo neuropsicomotor con movimientos del bebé (28,29)

2.2.2.3. El Embarazo: Tercer Trimestre: En este trimestre el feto alcanza su mayor crecimiento, logrando completar su desarrollo. Este progreso en la formación del feto ocasiona cambios finales en la madre, que son evidentes bajo ciertas circunstancias y se van acentuando conforme progresa el embarazo al término. Estos problemas incluyen insomnio, fatiga, dificultad para contener la orina, disnea, deformidades de la microcirculación, entre otras. Los cambios más notables del feto incluyen la producción de sustancia surfactante que permitirá la correcta respiración luego del nacimiento, la ampliación somato-sensorial, y la maduración del sistema inmunológico (28). Otros cambios incluyen el perfeccionamiento de la formación ocular y de los anexos oculares, el crecimiento y afianzamiento ulnar, la distribución organizada de grasa desde el centro a las extremidades.

A partir de las 32 semanas de gestación hay una expansión uterina desde el centro de la pelvis hacia la parte inferior medial torácica (28,29). Las deformaciones del cérvix a nivel del cuello uterino permiten su apertura y la dilatación progresiva para el parto. Asimismo, los dolores infra abdominales son constantes y son indicativo de las contracciones vaginales. Asimismo, el malestar general permitirá en última instancia el rompimiento de la placenta y el nacimiento del bebe a través del parto, y del alumbramiento de la placenta (29).

2.2.3. Microbiota vaginal normal en el embarazo

La microbiota de la mucosa vaginal constituye una de las principales barreras de contaminación feta durante el embarazo. El embarazo es habitualmente una inmunosupresión fisiológica que impide el rechazo del feto durante el periodo gestacional, ya que el feto es considerado ajeno al organismo de la madre, pese a compartir una carga genética equivalente. Para tal fin, el organismo de la madre se vale de artilugios que permiten mantener este estado, estos incluyen a saber reducción del pH vaginal, incremento de *Lactobacillus* progresivos (predominantes en secreciones vaginales), alteración, por consiguiente, de la flora microbiológica vaginal, ocasionando protección general frente a noxas (30).

A estos cambios se le suma el incremento de la vascularización vaginal, incremento de la distensibilidad, del flujo vaginal hormono-dependiente, favoreciendo la estabilidad de la mucosa y la protección del embarazo. El pH vaginal, por estos cambios se torna más ácido de adentro hacia afuera, por el posible contacto con noxas (30). Las alteraciones de estas condiciones pueden alterar la homeostasis de la mucosa y poner en riesgo el embarazo. Se ha demostrado que la reducción de *Lactobacilos* favorece infecciones vaginales y consecutivamente el progreso de la gravedad del embarazo (31). La concentración de esto últimos se incrementa diez veces su concentración normal, favoreciendo una simbiosis con microorganismos anaeróbicos.

Las especies *Staphylococcus* y *Corynebacterium* es frecuente en mujeres prepúberas y posmenopáusicas, más por el contrario en mujeres de edad reproductiva lo más frecuente es la colonización por *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*, así como anaerobios (30,31).

2.3.1. Microbiota patógena en el embarazo

Cuando la microbiota vaginal cambia se pueden presentar infecciones oportunistas. Las infecciones durante el embarazo están relacionados con partos prematuros evitables, malformaciones fetales y complicaciones materno-fetales. Los cambios del pH sobre 5, general un desequilibrio de la flora normal, con la propagación de bacterias y otros patógenos oportunistas (31). Detallaremos las principales infecciones vaginales durante el embarazo:

- a. **Vaginosis bacteriana:** La Vaginosis bacteriana es una colonización por bacterias (Lactobacilos, bacterias anaerobias , *Gardnerella vaginalis*) esta tiene una prevalencia fluctuante de entre 10 a 32% en la población obstétrica, y es un mal indicador ya que acrecienta el riesgo de parto prematuro (de 1.4% a 6.9%) por sus aspectos patogénicos al permitir contracciones uterinas. Estas infecciones, son indicadores de riesgo de embarazo y rotura temprana de membranas a partir de las 16 semanas de gestación. El manejo oportuno de estas infecciones reduce considerablemente este riesgo de morbimortalidad perinatal, siendo necesario la evaluación constante del pH vaginal (31,32).

- b. **Candidiasis vaginal:** Otros microorganismos que pueden colonizar son los hongos. Está dada por la susceptibilidad de las gestantes a este tipo de infecciones (Los cambio de Ph). Favorecen al desarrollo principalmente de *Candida albicans*, que es responsable de la vulvovaginitis y candidiasis cuando el pH de vaginal se encuentra entre 4 - 4.5 Ph (31).
- c. Si bien estas infecciones afectan a >70% de mujeres en edad reproductiva, estas solo no incrementan el riesgo de transmisión vertical o congénita (28). Alrededor del 50% de los casos presenta una nueva recurrencia, el 8% presenta infección crónica, mientras que infección asintomática (>35%). Las recurrencias frecuentes más en embarazadas donde a su vez la respuesta terapéutica es menor (31,32).
- d. **Infecciones por *Streptococcus agalactiae*:** Esta infección es una de las tres causas principales de morbimortalidad neonatal ocasionando la muerte en 1 de cada 4 recién nacidos (33). Para que la infección por EGB se desarrolle satisfactoriamente la bacteria necesita colonizar el epitelio vaginal de las gestantes, donde puede penetrar las membranas placentarias durante el periodo gestacional, y durante el parto puede ser inhalado en los fluidos y colonizar la orofaringe del neonato (34). Si bien, la placenta protege al feto esta cavidad es colonizada ascendentemente hacia el líquido amniótico por factores poco

conocidos y discutibles aún, por EGB a través del cérvix (35,36). Para que esta colonización se dé existen factores como el embarazo, el serotipo de EGB, y factores socioeconómicos y étnicos de la gestante (37). Por otro lado, se genera inmunidad humoral frente a estos patógenos pudiendo ser transferidos al feto para su protección (38). Este mecanismo no cubre por completo al feto ya sea por inmadurez del sistema inmune como por otros defectos, pudiendo desarrollar infecciones (39). También la infección nosocomial ha cobrado gran importancia en los últimos años (40). A partir de la primo-infección la gestante puede desarrollar infecciones urinarias, corioamnionitis, peritonitis, endocarditis, entre otras, acompañada o no de fiebre postparto. También la infección por EGB puede ocasionar sepsis, meningitis, otitis media, osteomielitis, celulitis y neumonía neonatal (41). Asimismo, esta infección puede ocasionar funisitis, donde hay infiltración de microorganismos en el cordón umbilical, pudiendo ocasionar Falla orgánica fetal (41). Las infecciones severas pueden resultar en la muerte o discapacidad permanente de los neonatos (42).

2.2.4. Infecciones en el embarazo

2.4.1. Infecciones urinarias

Es una infección (ITU) en cualquier parte de su sistema urinario, que incluye los riñones, la vejiga, los uréteres y la uretra. Esta

constituye la principal enfermedad infecciosa durante el embarazo (alrededor de 12% gestantes sanas y 30% con factores de riesgo). Estas pueden clasificarse como ITU de vías bajas, de vías altas con pielonefritis aguda, bacteriuria asintomática y sintomática. Los agentes causales de esta infección son frecuentemente *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, entre otros incluyendo hongos como *C. albicans*. (43)

2.4.2. ITU en gestantes

El desarrollo de ITU durante el embarazo ocasiona una incidencia de 8% a nivel mundial, convirtiéndose en la complicación más frecuente durante la gestación. El riesgo inicia a partir de la sexta semana de gestación y mantiene un pico máximo entre las semanas 22 y 24. Ciertas alteraciones como la dilatación uretral, hidronefrosis fisiológica, entre otras predisponen el desarrollo de ITU durante el embarazo, por otra parte, la glucosuria y proteinuria son factores que incrementa el riesgo de ITU durante el embarazo (44). El desarrollo de bacteriuria asintomática justifica primero el interés clínico para su *screening* en las mujeres embarazada para su consiguiente tratamiento (43).

La América College of Obstetrics and Gynecology (ACOG) recomienda en todas las mujeres embarazadas la realización de un urocultivo entre las 12 y 16 semanas, independiente de sus antecedentes. Estas mujeres deben de recibir tratamientos previos para prevenir complicaciones descritas. (45)

2.4.3. Cistitis

La infección vesical se conoce como cistitis aguda, que complica de 1% a 4% de embarazos. Esta infección presenta un cuadro clínico clásico de ITU de vías bajas como disuria, polaquiuria, tenesmo vesical, nicturia piuria y en ocasiones hematuria. El diagnóstico se basa en las manifestaciones clínicas asociadas a la sintomatología, con la adición de un urocultivo positivo. La negatividad del urocultivo indicaría una posible infección por *Chlamydia* que también tiene alto impacto durante el embarazo. Este diagnóstico no incrementa el riesgo de presentar pielonefritis durante el embarazo y los agentes etiológicos son bacterias como *E. coli* y *P. mirabilis* (27)

2.4.4. Pielonefritis

Por su parte la pielonefritis es una de las más frecuentes complicaciones durante el embarazo. Tiene una incidencia de 2% aproximadamente, si está presente con bacteriuria asintomática, este porcentaje se incrementa sobre 25%. La pielonefritis se desarrolla más frecuentemente durante segundo y tercer trimestre. Las manifestaciones clínicas incluyen disuria, polaquiuria, dolor supra púbico, orina mal oliente y en ocasionalmente hematuria, estas manifestaciones clínicas son compatibles con cistitis. A esta

sintomatología se le adiciona fiebre, dolor lumbar intenso y constante, y una alteración del estado general.

El diagnóstico, a parte de la clínica, está confirmado con un urocultivo $>100,000$ UFC/ml de orina, y con hallazgos ocasionales en el sedimento urinario (hematíes, piocitos y cilindros leucocitarios, proteinuria). El riesgo de la extensión infecciosa por vía sanguínea es latente y constituye un componente clínico de interés, para evitar las complicaciones sanguíneas es necesario incrementar los controles rutinarios prenatales a través del examen de orina y urocultivo (27,45).

2.4.5. Bacteriuria asintomática

Es una colonización bacteriana significativa asintomática del tracto urinario inferior. Esta es más frecuente durante el embarazo (incidencia de entre el 2 - 7%) diagnosticándose esta infección con $>100,000$ UFC/ml en el urocultivo de las gestantes. Los factores de riesgo para su desarrollo involucran edad, el comportamiento sexual, historia previa de ITU, el bajo nivel socioeconómico, entre otras.

Esta infección puede ocasionar complicaciones, principalmente la progresión a pielonefritis (hasta 50% de casos), estas complicaciones son progresivas y pueden ser el doble en mujeres embarazadas sin antecedentes de bacteriuria. Las complicaciones en gestantes pre parto puede deberse a inicio del trabajo de parto

ocasionado por las endotoxinas bacterianas o por prostaglandinas. Otro aspecto importante de la bacteriuria asintomática es su alta tasa de recurrencia, por lo cual es recomendable realizar otro urocultivo aproximadamente 10 días posteriores a finalizar el tratamiento antibiótico. De la misma forma, se deben realizar urocultivos mensuales hasta el término del embarazo (45)

Cuando la microbiota vaginal cambia se pueden presentar infecciones oportunistas. EL desarrollo de infecciones durante el embarazo están relacionadas con partos prematuros evitables, malformaciones fetales y complicaciones materno-fetales. Los cambios del pH sobre 5, general un desequilibrio de la flora normal, con la propagación de bacterias y otros patógenos oportunistas (31). Detallaremos las principales infecciones vaginales durante el embarazo:

2.2.5. Prevalencia de infecciones de tracto urinario

El embarazo constituye uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de ITU, afecta de 5-10% de embarazos, genera el 10% de admisiones hospitalarias en gestantes, y la bacteriuria asintomática no tratada sucede como factor de riesgo de pielonefritis (27). Los factores de riesgo para el desarrollo de ITU son los siguientes, a saber: bacteriuria asintomática, historia previa de ITU, desarrollo de litiasis renal, malformaciones uro-ginecológicas, multiparidad, Diabetes mellitus tipo 2, infecciones por *Chlamydia trachomatis*, entre otras.

2.2.6. Complicaciones fetales

Existen complicaciones fetales en el progreso de ITU en la gestante. Estas complicaciones aparecen durante cualquier etapa del embarazo y pueden comprometer embarazos de riesgo, parto prematuro, retardo de crecimiento, rotura permanente de membranas, y muerte fetal (44). Es necesario conocer los mecanismos infecciosos para el desarrollo de la enfermedad, estos mecanismos de transmisión pueden ser horizontales o verticales (generalmente con curso asintomático), que pueden ocasionar alteraciones congénitas, perinatales (antes del parto) y neonatales (por leche materna o infecciones nosocomiales) (27, 44, 45).

2.2.7. Microbiología

2.2.7.1 Cultivo de orina

El urocultivo, prueba de oro para el aislamiento de patógenos del tracto urinario. Esta prueba sirve para diagnosticar infección sintomática o asintomática basada en la presencia de >100 000 ufc/ml de orina. Esta cantidad de bacterias ocasiona piuria y bacteriuria (45,46). Ya que esta prueba constituye el método principal para la identificación de ITU es importante asegurar los procesos de calidad en cada uno de las etapas pre, analíticas y post analíticas.

Recolección de muestra (44) La orina es un líquido estéril, existe una gran posibilidad de contaminación durante la micción (durante

la recolección de muestras por chorro medio) (45). Las recomendaciones de la Sociedad Española de Microbiología implican que la recolección de muestra se realice a primeras horas matutinas, con la técnica de chorro medio, y evitar la ingesta forzada de líquidos para que el paciente realice la micción por el riesgo de dilución de las colonias en la orina. Estas actividades de colección de muestras se deben de realizar posterior a la limpieza de la zona genital de adelante hacia atrás. En el caso de mujeres se deben de separar los labios vaginales de manera que el chorro de orina no tenga contacto con los genitales externos.

Procedimiento La muestra de orina es evaluada por 2 pruebas de tamizaje: a) La coloración de Gram, método rápido, confiable y económico para valorar la cantidad de bacterias en 10^5 ufc/ml. además, nos permite determinar las características morfológicas y tintoriales del microorganismo. b) La prueba de nitrito: La orina normal no contiene nitratos, estas son dependiente de la dieta, al consumir alimentos ricos en nitrato se eliminan en la orina. Si unas bacterias entran al tracto urinario, los nitratos son metabolizados por la enzima nitrasa de ciertas bacterias capaces de causar infección urinaria, sin embargo, usted podría tener una infección y aun si no se encuentran nitritos porque las bacterias no siempre convierten los nitratos en nitritos (46).

La detección de actividad antimicrobiana en orina: se realiza para saber si hay algún inhibidor de crecimiento bacteriano

(medicamentos previos al análisis). Esta técnica se realiza con un asa de siembra calibrada (0,01 y 0,001 ml), para inocular un volumen determinado de orina sobre el medio de cultivo (selectivo, de aislamiento como agar sangre o CHROMagar) para obtener recuentos de 100 a ≥ 1000 uufc/ml. Para el caso de *S. agalactiae* en el medio cromogénico, este se desarrolla con un crecimiento sostenido de colonias de color celestes sobre el agar.

Además, la muestra de orina será almacenado en refrigeración durante 24 horas, después de lo cual será desechada hasta demostrar su negatividad (47).

En la Tabla 1 se muestra las pruebas de identificación presuntiva de EGB:

Tabla 1. Características generales de *Streptococcus agalactiae* (Grupo B)

PROCEDIMIENTO DE IDENTIFICACIÓN DE <i>Streptococcus</i> GRUPO B	
COLORACIÓN GRAM	Cocos Gram positivos
AGAR ASANGRE DE CARNERO	Traslucidas a opacas; planas de superficie brillante; halo estrecho de β -hemolisis o sin hemolisis.
HEMOLISIS	β , Ninguna
CATALASA	-
PRUEBA DE CAMP	+
PYR	-
BILIS-ESCOLINA	-
DESARROLLO EN NaCl	Variable
HIDROLISIS DE HIPURATO	+

BACITRACINA	R
OPTOQUINA	R
TMS	R
ANTIBIOGRAMA	METODO: Disco Difusión
	MEDIO: Mueller Hinton con 5% de Sangre de Carnero
	INOCULO: Suspensión de la colonia que tengan de 18 a 20 horas de crecimiento en el ASC directamente comparando con la escala 05 de McFarland.
	INCUBACIÓN: 35°C ± 2°C con 5% de CO ₂ 20-24 horas.

Desde hace

Características del antibiograma mínimo para el desarrollo de Streptococcus β-hemolíticos son penicilina, eritromicina, clindamicina y levofloxacino. La siguiente fase confirmatoria será el sistema automatizado de identificación y antibiograma de bacterias y levaduras (como el sistema Vitek o Phenix), el cual cuenta con las siguientes tarjetas para Bacterias Gran Negativas y Bacterias Gran Positivas , y levadura.

2.2.7.2. Medios Cromogénicos

Los medios cromogénicos son diferenciales permitiendo la coloración de bacterias y hongos en muestras unitarias o mixtas. Como ya referimos esta técnica está fundamentada en el desarrollo

de color a través de la oxidación del sustrato. Conforme su utilidad estos medios pueden clasificarse según su finalidad:

- Medios de orientación, que consienten en identificar múltiples microorganismos en una muestra cultivada.
- Medios selectivos, que consisten en la identificación de un determinado microorganismo, teniendo mecanismos inhibitorios de otros microorganismos acompañantes.
- Medios para la detección de mecanismos de resistencia, que a través del color facilitan la identificación de mecanismos de resistencia unitaria.

El fundamento de estos medios cromogénicos es la producción de color. Estos colores serán característicos del microorganismo en estudio y permitirán una diferenciación fácil y precisa. Algunos sustratos son X-glucorónido, triptófano, como ONPG, X-Gal, entre otros cuando se da la escisión del sustrato se liberarán los cromóforos detectándose mediante la observación directa de color en la colonia o incluso su difusión en el medio de cultivo. Un medio típico no selectivo cromogénico es el usado para urocultivos, permite el aislamiento de uropatógenos, aunque también crecen otros microorganismos de importancia clínica

2.2.7.3. CHROMagar orientation en ITU

Este medio cromogénico es un medio no selectivo que permite la identificación de patógenos que ocasionan ITU sin la necesidad de pruebas confirmatoria. Uno de los principales agentes microbiológicos que ocasionan ITU es *E.coli* (60 y 70% del total de ITU) seguido por *Enterococcus*. Otros agentes como *Staphylococcus saprophyticus* y *Streptococcus agalactiae* son frecuentemente aislados. Las ventajas de este medio respecto a los medios convencionales de aislamientos son:

- La identificación excluyente de microorganismos patógenos.
- Alto rendimiento en la detección, cuantificaciones presuntivas fiables estas patógenas.
- Alto rendimiento en aislamientos mixtos.

Se ha demostrado en cuanto a la eficiencia de este medio que una placa de CHROMagar Orientación produce similar información que agar sangre, CLED y MacConkey utilizados usualmente en el urocultivo. Además, de estos aislamientos se puede realizar directamente el antibiograma. Este medio además, registra numerosos microorganismos en la misma muestra, independientemente de los patógenos de ITU.

(Streptococcus
en CHROMagar
Orientación)

del laboratorio
microbiología
San Bartolomé

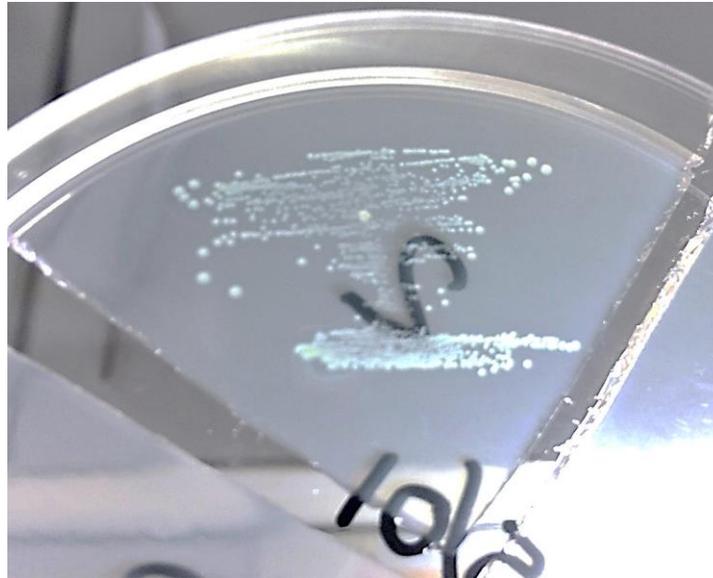


Figura 2
agalactiae

imagen
obtenida
de
del hospital



Figura 3 (Streptococcus agalactiae en Agar Sangre) imagen obtenida del laboratorio de microbiología del hospital San Bartolomé

2.2.7.4. Agentes etiológicos

Los agentes etiológicos más frecuentes de ITU son Bacilos Gram negativos (*E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*), y por cocos Gram positivos: como *Enterococos spp*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococos agalactiae*, este último de alta importancia gestantes. Se considera que la progresión de los trimestres durante el embarazo incrementa la posibilidad de infección por EGB.

2.2.7.5. Estreptococo del Grupo B

Todos estos microorganismos se agrupan en una sola especie (*Streptococcus agalactiae*). Estos son saprofitos encontrándose en mucosa uretral, vaginal y gastrointestinal. Son altamente patogénicos en neonatos, llegando a provocar septicemia, neumonía y meningitis, en gestantes causa infección urinaria, endometritis puerperal e infección de herida operatoria asociada a cesárea. (48-50)

2.2.7.6. Fisiología bacteriana e Identificación

Los EGB son cocos en cadena, Gram positivos, con 0.6-1.2 μm de diámetro, anaerobios facultativos, catalasa negativos e hidrólisis del hipurato positivo. Colonias en formas esféricas de 2 mm, blanquecinas, lisas y β -hemolíticas (50). La identificación de estas bacterias está basada en la prueba de CAMP (véase más adelante), hidrólisis del hipurato y resistencia in vitro a discos de bacitracina y clotrimazol. Para la identificación final de EGB es

necesario pruebas de aglutinación en látex o pruebas moleculares (51-53).

2.2.7.7. Factor CAMP

La prueba de Christie, Atkins, Munch-Petersen (CAMP) es la prueba para la detección de EGB, a través de la producción de proteína difusible y termoestable (factor CAMP) que acrecienta la hemólisis de *S. aureus* (productor de esfingomielinasa C), que se une a la membrana de los eritrocitos. Estos productos extracelulares se difunden superponiéndose en el medio suplementado con sangre, acentuando la hemólisis y demostrando el efecto sinérgico del CAMP (factor producido por *S. agalactiae*) y la hemolisina β (*S. aureus*) (50-53).

2.2.7.8. Clasificación serológica

La clasificación serológica permite agruparlos en tres grupos. El primero abarca las cepas con antígeno específico de grupo B (casi la totalidad de cepas), los anticuerpos producidos no son eficientes en el reconocimiento frente a la infección. (50,51). Los otros comprenden el polisacárido capsular de tipo-específico, que presenta 9 antígenos distintos. Los anticuerpos frente a este antígeno son capaces de proteger de la infección causada por cepas de su tipo (52). Finalmente, el último antígeno es la proteína C y otros antígenos proteicos como las proteínas R y Rib (51).

2.2.7.9. Factores de virulencia

Los factores de virulencia de EGB están conformados por estructuras bacterianas capaces de generar una respuesta inmunológica en el huésped. Estos están conformados por el polisacárido capsular (hacia donde están enfocados las terapias de vacunación), las proteínas capsulares (C, Rib, etc.), la hemolisina (que ocasiona inflamación y producción de óxido nítrico), y el pigmento de EGB (que podría jugar un rol en la hemólisis) (50,51,53). Se considera que las cepas más virulentas son las productoras de ácido siálico (que forman parte del polisacárido capsular) que actúa como factor de virulencia.

2.2.7.10. Patogenia

La infección por EGB es ascendente (en adherencia, invasión y daño al huésped y sobrevivencia in vivo), las gestantes con esta infección en vía rectal, vaginal y vías urinarias, pueden ocasionar infección fetal por rupturas de membranas de manera prematura o durante el parto. Los neonatos infectados por EGB permanecen expuesto y colonizados de manera asintomática, donde cerca del 1% desarrollan síntomas de infección luego del parto (53,54).

A. Adherencia

Existen proteínas relacionadas con la adherencia celular, permite la adherencia a la superficie epitelial por medio de proteínas de

superficie. Esta sería un paso definitivo en la infección por EGB (53,54)

B. Invasión y daño al huésped

Para que estos procesos se desarrollen es necesario la invasión y colonización del huésped por EGB, a través de toxinas, enzimas. Las principales enzimas involucradas en la invasión son la hemolisina (toxina formadora de poros en la pared celular, involucrada en la destrucción de células pulmonares, generando hipertensión pulmonar, shock séptico e invasión celular) (53,54). Otra enzima es el factor CAMP (oligomerasa formadora de poros en las células del huésped) (53); las enzimas digestivas, (peptidasas, proteasas, colágenas y hialuronidasa), que participan de la degradación celular, liberando nutrientes y asistiendo la propagación del EGB a nivel sistémico.

C. Supervivencia *in vivo*

EGB utiliza mecanismos de evasión. Estos mecanismos incluyen la variación antigénica y la producción de enzimas capaces de inhabilitar, desactivar y destruir proteínas y componentes de la inmunidad del huésped, con la consiguiente supervivencia y siendo viable para proseguir con el desarrollo patogénico de sepsis, neumonía o meningitis (55). El serotipo III, de los nueve serotipos existentes, es responsable de alrededor de 50% de los casos. (54).

2.7. Tratamiento de la enfermedad estreptocócica del grupo B

Agentes de profilaxis antibiótica intraparto: La eficacia tanto de penicilina y ampicilina (53) como de los agentes intraparto administrados por vía intravenosa para la prevención EGB neonatal de aparición temprana fue demostrado en ensayos clínicos. La penicilina tiene un espectro más estrecho de actividad antimicrobiana y, por lo tanto, es menos probable que seleccione microorganismos resistentes, aunque un ensayo clínico encontró que la penicilina y la ampicilina administrado por vía intravenosa intraparto fueron asociados igualmente con la presencia de microorganismos Gram negativos resistentes a la ampicilina resistente en el cultivo posparto vaginal-perineal (56,57).

La dosificación de penicilina y ampicilina utilizadas para la profilaxis intraparto de SGB está dirigida a alcanzar unos niveles convenientes en la circulación fetal y en el líquido amniótico rápidamente mientras evita niveles séricos potencialmente neurotóxicos en la madre o feto (58). Aunque la duración exacta de los antibióticos necesarios para prevenir la transmisión vertical de EGB ha sido debatido, los antibióticos beta-lactámicos para la profilaxis del EGB administrado por ≥ 4 horas antes del parto ha sido encontrado que es altamente efectivo en la prevención de la transmisión vertical de *EGB* (59) y la enfermedad por *SGB* de inicio temprano. Duraciones más cortas de los antibióticos apropiados podrían proporcionar cierta protección; en particular, los datos de colonización sugieren duraciones de ≥ 2 horas antes del parto podría conferir alguna protección (59).

La eficacia de las alternativas a la penicilina o ampicilina que se han utilizado para prevenir la enfermedad de SGB de inicio temprano entre recién nacidos de madres alérgicas a la penicilina (incluyendo cefazolina, clindamicina, Eritromicina y vancomicina) no ha sido medido en ensayos controlados. La cefazolina tiene un espectro relativamente estrecho de actividad, similar a la farmacocinética y dinámica de la penicilina y la ampicilina, y alcanza altas concentraciones intra amnióticas (60). Sin embargo, aproximadamente el 10% de las personas con alergia a la penicilina también tienen reacciones de hipersensibilidad inmediata a las cefalosporinas.

De manera contraria, los datos sobre la capacidad de clindamicina, Eritromicina y vancomicina para alcanzar niveles bactericidas en la circulación fetal y líquido amniótico son muy limitados; los datos disponibles sugieren que la Eritromicina y la clindamicina suministrada a mujeres embarazadas no alcanza tejidos fetales (61).

2.2.9. Prevención

Profilaxis antibiótica intravenosa intraparto: El uso de la profilaxis intravenosa con antibióticos intraparto para prevenir la enfermedad de SGB a inicio temprano en el recién nacido fue estudiado por primera vez en los años ochenta. Los ensayos clínicos y los estudios observacionales bien diseñados hallaron que la profilaxis antibiótica intraparto disminuye la transmisión vertical de SGB al recién nacido, medida por la colonización del infante (61) o por la protección contra la enfermedad de inicio temprano (62,63). Los primeros ensayos sugieren una eficacia del 100%

para la profilaxis antibiótica intraparto para prevenir la enfermedad de inicio temprano en recién nacidos de mujeres colonizadas por SGB (64). Estudios observacionales posteriores han encontrado que la efectividad debe ser del 86% al 89% en los recién nacidos de mujeres que recibieron profilaxis antibiótica intraparto para SGB.

Vacunas para prevenir la enfermedad por EGB: Las vacunas de EGB se han investigado como una herramienta para reducir la colonización materna y prevenir la transmisión a neonato (65); sin embargo, no hay vacuna con licencia disponible actualmente. Cantidades suficientes de IgG sérica en las madres tipo específica contra el polisacárido capsular de EGB protegen contra la enfermedad invasiva en sus recién nacidos (66). Ensayos clínicos en Fase I y II en mujeres adultas sanas y no embarazadas de la vacuna conjugada polisacárido-proteínas monovalente de tipos asociados con la enfermedad del EGB han demostrado que estas son bien permitidas e inmunogénicas (66). Un reciente ensayo, doble ciego aleatorizado de una vacuna conjugada contra e EGB del serotipo III entre mujeres no embarazadas en edad reproductiva hallaron un retraso significativo en la adquisición de la colonización con el serotipo-vacuna entre los receptores de vacunas (65). Aunque una eficaz vacuna contra EGB sería una herramienta poderosa contra la enfermedad de SGB, ninguna vacuna con licencia todavía está disponible.

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

Hi: El medio Cromogénico CHROMAGAR ORIENTATION, presenta una sensibilidad y especificidad por encima del 55% para la identificación de *Streptococcus agalactiae* en urocultivos de gestantes en el Hospital San Bartolomé

Ho: El medio Cromogénico CHROMAGAR ORIENTATION, presenta una sensibilidad y especificidad por debajo del 55% para la identificación de *Streptococcus agalactiae* en urocultivos de gestantes en el Hospital Nacional San Bartolomé

2.3.2. Hipótesis específicas

El medio Cromogénico CHROMAGAR ORIENTATION, presenta una Valor Predictivo Positivo por encima del 80% para la identificación de *Streptococcus agalactiae* en urocultivos de gestantes en el Hospital Nacional San Bartolomé

El medio Cromogénico CHROMAGAR ORIENTATION, presenta una Valor Predictivo Negativo por encima del 80% para la identificación de *Streptococcus agalactiae* en urocultivos de gestantes en el Hospital Nacional San Bartolomé

La frecuencia de *Streptococcus agalactiae* en urocultivos de gestantes en el Hospital Nacional San Bartolomé, enero 2016 a marzo 2019, Lima-Perú es superior al 5%.

2.4. Variables

Medio Cromogénico "CHROMAGAR orientation"

2.5. Definición operacional de términos

2.5.1. Definición conceptual

Medio de cultivo CHROMagar orientación es un medio microbiológico basado en la coloración excluyente de bacterias de interés medico con el uso de sustratos cromogénicos, permitiendo el fácil reconocimiento, diferenciación y selección de microorganismos en muestras mixtas y puras.

2.5.2. Definición operacional

Medio de cultivo bacteriano cuyas características macroscópicas *referidas por la coloración y aspecto de la colonia orientan hacia la identificación y aislamiento de en relación con la cantidad de colonias desarrolladas sobre el medio.

2.5. Operacionalización de Variables

VARIABLE	CONCEPTO	TIPO	INDICADOR	ESCALA/CATEGORÍA
Métodos de aislamiento de <i>Streptococcus</i>	Medio de cultivo bacteriano cuyas características macroscópicas *referidas por la coloración y aspecto de la colonia orientan hacia la identificación y aislamiento de en relación con la	Cualitativo nominal	Agar Cromogénico "CHROMAGAR orientation" Sistema Vitek automatizado	Crecimiento de colonias Celestes (+) Otros colores de colonias (-) Identificación por componentes

	cantidad de colonias desarrolladas sobre el medio.			bioquímicos coincidentes con <i>S. agalactiae</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Cocos en cadena, Gram positivos, con 0.6-1.2 μm de diámetro, anaerobios facultativos, catalasa negativos e hidrólisis del hipurato positivo.	Cualitativo nominal	Hemolisis Tamaño Forma	Beta hemolisis 0.6-1.2 μm Colonias ,puntiformes, con bordes regulares

2.5. Definición operacional de términos

Streptococcus: grupo de bacterias gram positivas causantes de enfermedades, que tienen características hemolíticas específicas.

Desempeño: rendimiento de un proceso relacionado con sus características intrínsecas y dependiente de las extrínsecas.

Agar: sustancias gelatinosa obtenida de algas rojas usado componente principal de los métodos bacteriológicos para la identificación y cultivo de microorganismos.

Urocultivo: cultivo de orina con métodos convencionales y automatizados para el aislamiento de microorganismos causantes de enfermedades.

CAPÍTULO III: DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Tipo de investigación

Según la manipulación de la variable

Estudio observacional: Dado que no se modificarán las variables en estudio, este estudio desarrolla una observación de los fenómenos relacionados con el aislamiento de cepas de *S. agalactiae* sobre el medio CHROMAGAR orientation.

Según el tiempo de evaluación

Retrospectivo: debido a que se usaran datos de anteriores años del desarrollo del proyecto, constituyendo estos los aislamientos de interés a analizar en el estudio

Según el número de mediciones

Transversal: Debido a que las evaluaciones de las muestras de orina y el aislamiento de las cepas de *S. agalactiae* sobre el medio "CHROMAGAR

orientation” serán evaluadas una sola vez, y no tendrán seguimiento posterior.

Diseño y enfoque metodológico

El diseño del estudio es no experimental y el enfoque será cuantitativo, debido a que el abordaje estadístico sobre el comportamiento de las variables va a requerir un análisis de datos (67).

3.2. Ámbito de Investigación

El ámbito temporal en el que se desarrollará esta investigación abarca las áreas de Microbiología clínica del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé (HONADOMANI), perteneciente al Ministerio de Salud del Perú (MINSA) durante el periodo de estudio.

Este hospital brinda los servicios atención médica-quirúrgico conducente primordialmente a pediatría, cirugía y Ginecoobstetricia, para lo cual cuenta con 250 camas. El departamento de GinecoObstetricia (GO) cuenta con seis salas: 1 sala parto, (cinco camas), 1 sala de puérperas, (cinco camas), salas de hospitalización, (seis salas, cada sala cuenta con treinta camas), sala de madres adolescentes (quince camas), UCI materna (cinco camas), salas de consultorio externos (cinco consultorios), sala de monitoreo fetal (cinco camas), y sala de pediatría (treinta camas).

3.3. Población y muestra

3.3.1 Población

Pacientes gestantes hospitalizadas o ambulatoria que acudieron a consulta externa del HONADOMANI SB durante los años del 2016 a marzo del 2019.

3.3.2. Muestra

Estará conformada por todas las muestras de pacientes gestantes atendidas en el HONADOMANI SB ya sea de hospitalizaron o de consulta externa desde enero del 2016 a marzo del 2019, que hayan tenido un examen de urocultivo.

3.3.3. Muestreo

Dado el diseño del estudio que esclarece un periodo de tiempo para la evaluación de *S. agalactiae* sobre el medio CHROMAGAR orientation, este estudio tendrá un muestreo no probabilístico por conveniencia de tipo censal.

1.3.2.1 Criterios de Inclusión

1. Cultivos de orina de pacientes embarazadas hospitalizadas o ambulatorias que acudieron al HONADOMANI SB.
2. Cultivo de orina positivo a *S. agalactiae*.

1.3.2.2 Criterios de exclusión

1. Cultivo positivo a enterobacterias
2. Cultivo positivo, con aislamiento de especies fúngicas
3. Cultivos contaminados

Se incorporaron cepas ATCC 13813 como control de crecimiento del agar cromogenico y de todo el procesamiento analítico microbiológico. El laboratorio de bioseguridad fue nivel III correspondiente al nivel usado en el Hospital.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

El instrumento de recolección de datos a utilizar será obtenido directamente de la base de datos primaria del laboratorio de microbiología (programa Whonet), el cual contiene los datos del paciente y de la muestra. Los datos obtenidos serán codificados hacia una matriz de datos en MS- Excel donde se ingresará de la información proveniente de los datos clínicos y de los resultados del laboratorio de microbiología, constituyendo la base de datos del estudio

3.4.1. Procedimiento del estudio

El procesamiento de muestras para el estudio será en todos los casos a partir de muestras de orina obtenidas por chorro medio siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Científica Peruana de Microbiología (68). Las etapas del proceso incluyen:

1. . La información para la realización de estudio se obtendrá del servicio de laboratorio del HONADOMANI SB durante el periodo de estudio.

2. Se redacta una carta dirigida al Dr. ILDAURO AGUIRRE SOSA, director general del HONADAMANI SB San Bartolomé, solicitando revisión y aprobación del proyecto adjuntando lo siguiente:
3. Dos copias del proyecto de investigación, una copia digital del proyecto (CD)
4. Boleta de pago por la revisión del proyecto según código
5. Carta de compromiso de los investigadores (Indicar correo y N° de teléfono)
6. Carta del tutor, comprometiéndose al asesoramiento del proyecto en el área donde se realizará la investigación
7. Carta de aprobación del jefe de departamento y/o servicio, para la ejecución del proyecto, dirigirlo por mesa de partes.
8. Obtenido el permiso se podrá acceder a su base de datos llamado whonet donde se almacena toda la información de cada paciente.

3.5. Análisis estadístico de datos

Se realizará en IBM SPSS v21.0 (Armonk, USA) para MacOs, inicialmente con estadística descriptiva para la determinación de medidas de tendencia central, prevalencias y frecuencias absolutas y relativas. Además, se utilizará estadística no paramétrica para evidenciar las diferencias los periodos de estudio con Tchi-cuadrado. Para determinar el rendimiento del CHROMAGAR orientation para la determinación de *S. agalactiae* en muestras de orina de gestantes se utilizará las pruebas diagnósticas (sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN)) considerando el sistema automatizado Vitek

como el gold estándar. Además, se utilizará Kappa de Cohen para establecer el grado de correlación entre pruebas considerando un p-value <0.05 y un intervalo de confianza de 95% como significativos. Los gráficos serán presentados por medio de tablas y gráficos según corresponda.

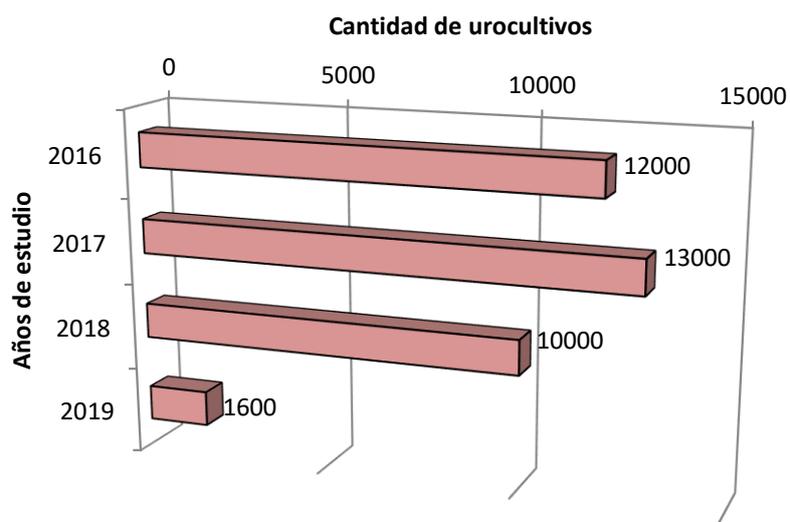
3.6. Aspectos éticos

Los aspectos éticos de esta investigación estarán asegurados por el resguardo que tendrán los investigadores sobre los datos de las pacientes incluidas en el estudio. Este resguardo se realizará utilizando un código por cada muestra, a fin de evitar conocer la identidad de cada paciente y por tanto utilizar los datos únicamente para esta investigación.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

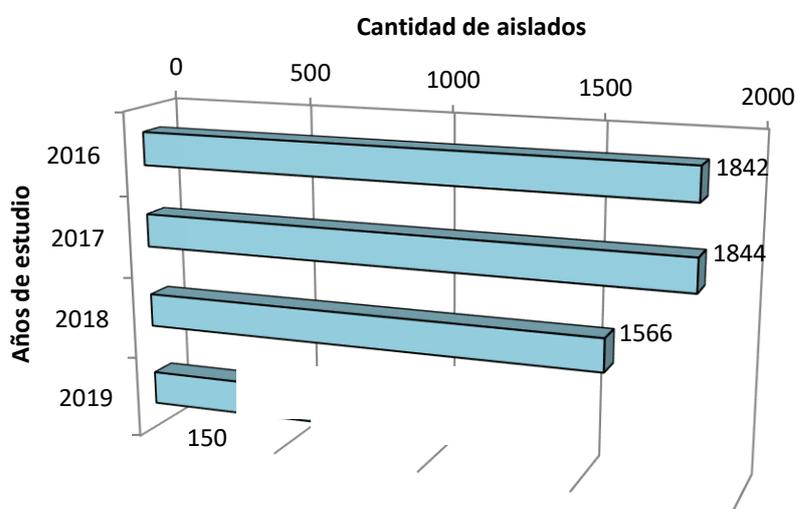
Durante el periodo de estudio se incluyeron 36600 muestras de orina para el cultivo, siendo 12000 (32.8%) el año 2016, 13000 (35.5%) el 2017, 10000 (27.3%) el 2018 y 1600 (4.4%) el 2019 (de enero a mayo) (Figura 1).



Fuente Elaboración propia

Figura 1. Distribución de muestras para urocultivo en gestantes del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé 2016-2019. Datos en N

Del total de pruebas se obtuvieron 6626 aislamientos en total, siendo 1842 (27.8%) el año 2016, 1844 (27.8%) el 2017, 1566 (23.6%) el 2018 y 1374 (20.7%) el 2019 (de enero a marzo) (Figura 2).

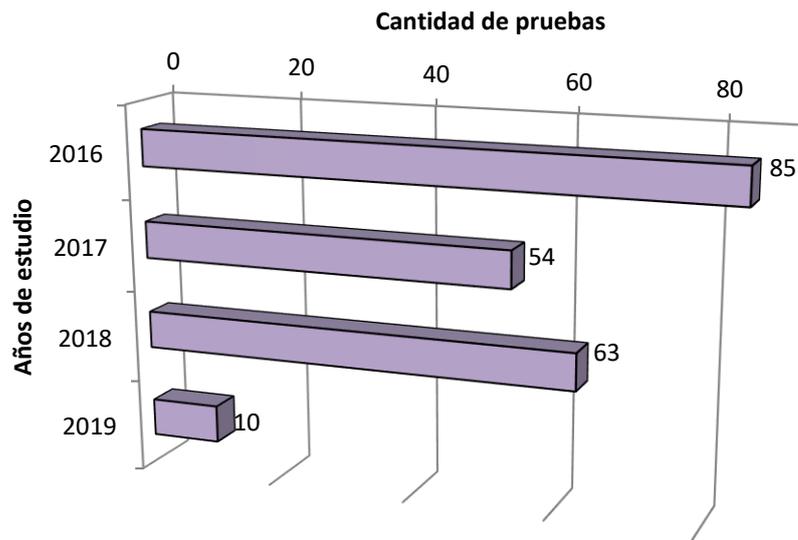


Fuente elaboración propia

Figura 2. Distribución de aislamientos en urocultivo de gestantes del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé 2016-2019. Datos en N

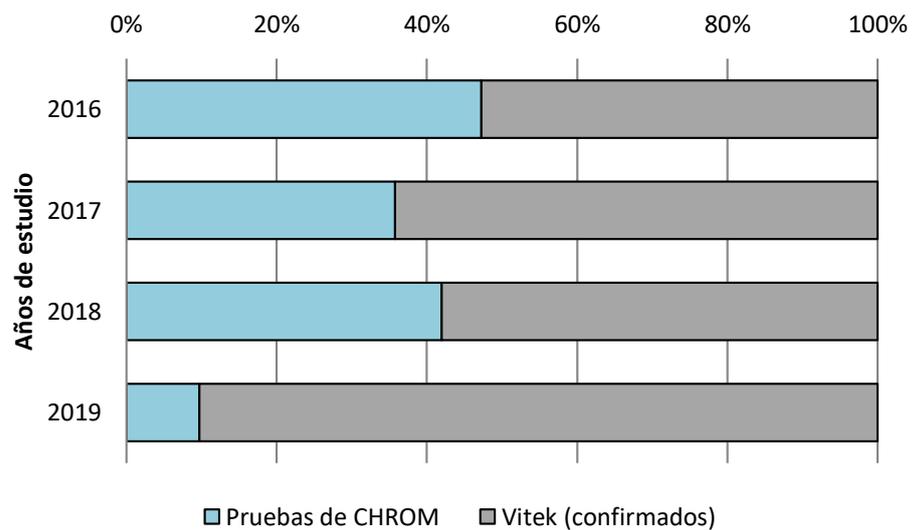
Del total de urocultivos 212 pruebas resultaron con aislamientos positivos de *S. agalactiae* en CHROMagar orientation aislando 85 (40.1%) el año 2016, 54 (25.5%) el 2017, 63 (29.7%) el 2018 y 10 (4.7%) el 2019 (de enero a marzo) (Figura 3).

Por otro lado, los aislamientos confirmados de *S. agalactiae* fue de 372 (5.6%), siendo 95 (25.5%) el 2016, 97 (26.1%) el 2017, 87 (23.4%) el 2018, y 93 (25%) el 2019 (de enero a Marzo) (Figura 4).



Fuente Elaboración propia

Figura 3. Distribución de aislamientos de *S. agalactiae* con el CHROMagar orientation en gestantes del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé 2016-2019. Datos en N



Fuente Elaboración propia

Figura 4. Aislamientos de *S. agalactiae* con el CHROMagar orientación y Vitek (casos confirmados) en gestantes en Lima. Datos en %

Las características de las pacientes se muestran en la Tabla 1. Donde el grupo etario más frecuente fue el de 31 a 40 años con 70.8%, seguido de grupo de entre 21-30 años con 15.6%. En cuanto al trimestre gestacional de las participantes el 82.5% estuvieron en el tercer trimestre gestacional.

Tabla 1. Resultados descriptivos de gestantes del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé 2016-2019.

Características	n	%
Grupo etario (años)		
<20	8	3.8
21-30	33	15.6
31-40	150	70.8
>41	21	9.9
Trimestre gestacional		
Primer	1	0.5
Segundo	36	17
Tercero	175	82.5

Fuente Elaboración propia

En total, 160 cepas de *S. agalactiae* no fueron aisladas en el CHROMagar orientation provenientes de gestantes del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé en el periodo 2016-2019 (6 fueron sobre diagnosticadas). Asimismo, los resultados de las medidas de rendimiento establecieron una sensibilidad diagnóstica de 55.4% (IC95% 50.3 a 60.3), una especificidad diagnóstica de 99.9% (IC95% 98.8 a 100), un valor predictivo positivo de 97.2% (IC95% 94 a 98.7), un valor predictivo negativo de 97.4% (IC95% 97 a 97.8), proporción de falsos negativos de

44.6% (IC95% 39.7 a 49.7), y proporción de falsos positivos de 0.1% (IC95% 0.0 a 0.2) (Tabla 2).

Tabla 1. Rendimiento diagnóstico del CHROMagar orientation para el aislamiento de *S. agalactiae* en gestantes del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, 2016-2019.

		Vitek test		
		Positivo	Negativo	Total
CHROMagar orientation	Positivo	206	6	212
	Negativo	166	6254	6420
	Total	372	6260	6632

Características diagnóstica	Proporción	IC 95%
Sensibilidad	55.4%	50.3% a 60.3% a
Especificidad	99.9%	99.8% 100.0%
Valor predictivo positivo	97.2%	94.0% a 98.7%
Valor predictivo negativo	97.4%	97.0% a 97.8%
Proporción de falsos positivos	0.1%	0.0% a 0.2%
Proporción de falsos negativos	44.6%	39.7% a 49.7%

Fuente Primaria

Los resultados de rendimiento nos permitieron estimar también el grado de correlación entre el CHROMagar y la prueba de Vitek para el aislamiento de *S. agalactiae* demostrando una concordancia buena ($\kappa=0.70$, IC95% 0.66 a 0.75) en gestantes del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, 2016-2019.

4.2 Discusión

El estudio tuvo como objetivo demostrar la utilidad del medio CHROMAGAR ORIENTATION, para la identificación de *Streptococcus agalactiae* en urocultivos de gestantes en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, demostrando una alta especificidad y moderada sensibilidad durante el periodo 2016-2019.

Sin duda el impacto que tiene *S. agalactiae* para ginecología y obstetricia principalmente, explica el interés de la microbiología clínica para su detección, aislamiento y terapéutica en un tiempo corto y con gran eficacia. Esto debido a su inherente carácter abortivo y a las consecuencias que para la salud ginecológica de las mujeres, principalmente las gestantes puede traer (3-5). Para desarrollar actividades clínicas continuas y certeras es necesario que los diagnósticos sean lo más pronto posible y las terapias antibióticas se encaminen a la mejora presurosa de la paciente, más aun si hay amenaza de aborto.

El poder diagnóstico de un laboratorio de microbiología clínica, permite establecer el agente etiológico con precisión lo que se puede traducir en una terapia útil y efectiva. Los estudios de Mohammad R, et al (17), Sabater et al (19), Campo et al. (22), Álvarez-Santás et al. (23), y Scarparo et al. (24) han demostrado el interés y la posibilidad de usar medios cromogénicos como posibles medios de detección temprana segura y rápida de *S. agalactiae* en diversas poblaciones.

Aunque los fabricantes de los medios cromogénicos de cultivo se encargan de encaminar estudios previos a la comercialización de estos

medios, su rendimiento muchas veces está relacionado a ensayos controlados en condiciones de laboratorio o a evaluaciones longitudinales en poblaciones con ciertas características y con determinados enfoques. Sin embargo, en la práctica clínica las muestra que llegan al laboratorio no son del todo optimas pudiendo limitar el rendimiento del medio, y por tanto el aislamiento de lo microorganismos.

El estudio de Sabater et al (19) demostró que con el CHROMAGAR ORIENTATION en 1003 muestras una detección de 205 cepas de *S. agalactiae*, de los cuales 194 (95%) fueron con el medio cromogénico. En este estudio de 372 cepas de *S. agalactiae* el ~55 % fue aislado en CHROMAGAR ORIENTATION, discordando del estudio español que demostró que 9/10 muestras tuvieron detección con el medio cromogenico, mientras que los resultados en Perú indican que solo 5/5 cepas de *S. agalactiae* pueden ser aisladas.

Estudios previos han descrito que los medios cromogenicos son una excelente alternativa para la identificación de *S. agalactiae* (22-24), sin embargo, estos estudios no han evaluado el rendimiento del medio de cultivo. En este estudio demostramos una sensibilidad de 55.4% y una especificidad de 99.9% cuando lo comparamos con el sistema automatizado Vitek. Previamente el CHROMAGAR ORIENTATION demostró una alta sensibilidad (94.6%) en comparación con el agar sangre que demostró una sensibilidad de 86.8% (19). Aunque los resultados de este estudio discrepan con este estudio previo (19), los métodos estándar considerados son distintos para los aislamientos de los patógenos.

El agar sangre de carnero al 5% es uno de los métodos tradicionales para la identificación y aislamiento de *S. agalactiae*, usándose en gran cuantía en los laboratorios de microbiología clínica. Aunque este pudo ser considerado como un método estándar, no se exige que durante el ensayo varios factores pudieran afectar a este medio, alterando sus resultados.

Por el contrario, en este estudio se consideró como prueba de control un método automatizado como el sistema Vitek, que al ser un sistema cerrado y estandarizado de procesamiento tiene menos posibilidades de error y por tanto la comparación va a resultar más robusta y exigente. Esto podría explicar la diferencia en el rendimiento entre ambos estudios.

Otro componente que podría estar implicado en el rendimiento, es la fase pre analítica donde la calidad y tipo de la muestra juegan un rol importante. En el estudio de Sabater et al (19) incluyeron muestras vaginales y rectovaginales, mientras que el presente estudio solo incluyo muestras vaginales. Esto podría además explicar los resultados diferentes.

Por ello, se deben de interpretar os resultados de este estudio en este contexto. El evaluar el desempeño de medios de cultivo va a permitir valorar los métodos para su aplicación como medios de detección, sobre todo en poblaciones con alta demanda.

CAPÍTULO V:

CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN

5.1. Conclusión

Se concluye que:

- El medio Cromogénico CHROMAGAR ORIENTATION, presenta una sensibilidad de 55.4% y una especificidad 99.9% para la identificación de *Streptococcus agalactiae* en urocultivos de gestantes en el Hospital San Bartolomé
- El medio Cromogénico CHROMAGAR ORIENTATION, presenta una Valor Predictivo Positivo de 97.2% para la identificación de *Streptococcus agalactiae* en urocultivos de gestantes en el Hospital Nacional San Bartolomé
- El medio Cromogénico CHROMAGAR ORIENTATION, presenta una Valor Predictivo Negativo de 97.4% para la identificación de *Streptococcus agalactiae* en urocultivos de gestantes en el Hospital Nacional San Bartolomé
- Determinamos una frecuencia de *Streptococcus agalactiae* en urocultivos de gestantes de 5.6% en el Hospital Nacional San Bartolomé, enero 2016 a marzo 2019, Lima-Perú.

5.2. Recomendaciones

- Se realicen evaluaciones más extensas que incluyan evaluaciones de mayor años que permitan entender verdaderamente como fluctúan los aislamiento de *S. agalactiae* conforme los años y los métodos de screening usado
- Se realicen evaluaciones multicentricas a fin de poder comparar los resultados de rendimiento del medio CHROMAGAR ORIENTATION con otros métodos de detección y confirmatorios
- Se realicen evaluaciones de cepas de *S. agalactiae* para conocer el comportamiento de los métodos de detección en provincias, ya que los protocolos y condiciones de trabajo son distintos entre regiones, pudiendo interferir con el desempeño del CHROMAGAR ORIENTATION.
- Se realicen evaluaciones de los procesos pre analíticos y posta analíticos a fin de saber cómo estos ejercen un nivel de error en la identificación de *S. agalactiae* con el CHROMAGAR ORIENTATION.

6. REFERENCIAS

1. Tamariz J, Obregon M, Jara J, Diaz J, Jefferson L, Guerra H. Colonización vaginal y anorectal por *Streptococcus agalactiae* en gestantes de los Hospitales Nacionales Cayetano Heredia y Arzobispo Loayza. Lima. Rev Med Hered 2004; 15 (3):144- 150.
2. Sotomayor FS. Prevalencia de Estreptococo beta hemolítico del grupo B en gestantes con amenaza de Elaboración propia parto pretérmino Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión Agosto-noviembre 2015. [Tesis] Lima: Facultad de Medicina Humana, Universidad Ricardo Palma; 2016.
3. Verani JR, McGee L, Schrag SJ. Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010. MMWR Recomm Rep. 2010; 59(RR-10): 1-36.
4. Viegas J, Larre S, Lopreto C. Detección y caracterización de *Streptococcus agalactiae* en muestras para urocultivo. Acta Bioquím Clín Latinoam. 2004; 38(4): 459-63.
5. Hernáiza C, Antóna N, Alósa J, Ordenc B, Orellanad M, Colominae J, et al. Significado clínico del aislamiento de *Streptococcus agalactiae* de orina de pacientes de centros de salud. Enferm Infecc Microbiol Clin 2004;22(2):89-91.
6. Furfaro LL, Chang BJ, Payne MS. Perinatal *Streptococcus agalactiae* Epidemiology and Surveillance Targets. Clin Microbio Rev. 2018; 31(4): e00049-18.
7. Swain B, Rakshit A, Kumar SK, Sahoo N, Otta S. Group B *Streptococcus*: An Unusual Cause for Urinary Tract Infection. J Clin Diagn Res. 2017 Aug; 11(8): DL05–DL06.
8. Reisner BS, Woods GL, Thomson RB, Larone DH, Garcia LS, Shimuzu RT. Specimen Processing. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (Editores). Manual of clinical microbiology, 7ma Edition. Washington D.C.: ASM Press; 1999.
9. MacKey JP, Sandys GH. Diagnosis of urinary tract infections. BMJ 1966;1(5496):1173-4. 5.
10. Muñoz P, Cercenado E, Rodríguez-Creixems M, Diaz MD, Vicente T, Bouza E. The CLED agar option in urine culture routine. A prospective and comparative evaluation. Diagn Microbiol Infect Dis 1992; 15:287-290.

11. Tamayo J, Gómez-Garcés JL, Alós JI. Evaluation of granada agar plate for detection of *Streptococcus agalactiae* in urine specimens from pregnant women. *J Clin Microbiol*. 2004; 42(8): 3834–3836.
12. Hengstler KA, Hammann R, Fahr AM. Evaluation of BBL CHROMagar orientation medium for detection and presumptive identification of urinary tract pathogens. *J Clin Microbiol* 1997; 35:2773-2777.
13. Samra Z, Heifetz M, Talmor J, Bain E, Bahar J. Evaluation of use of a new chromogenic agar in detection of urinary tract pathogens. *J Clin Microbiol* 1998; 36:990-994.
14. Aspevall O, Osterman B, Dittmer R, Sten L, Lindback E, Forsum U. Performance of four chromogenic urine culture media after one or two days of incubation compared with reference media. *J Clin Microbiol* 2002; 40:1500-15003.
15. Mazoyer MA, Orenga S, Doleans F, Freney J. Evaluation of CPS ID2 medium for detection of urinary tract bacterial isolates in specimens from a rehabilitation center. *J Clin Microbiol* 1995; 33:1025-1027
16. Manafi M, Kneifel W, Bascomb S. Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. *Microbiol Rev* 1991; 55:335-341.
17. Ulett KB, Benjamin WH, Zhuo F, Xiao M, Kong F, Gilbert GL, et al. Diversity of Group B *Streptococcus* Serotypes Causing Urinary Tract Infection in Adults. *J Clin Microbiol*. 2009; 47(7):2055-2060.
18. Toapanta MV, Tenorio PT, Gaybor M, Martínez F. Prevalencia y Factores Asociados a Colonización por *Streptococcus Agalactiae* en Mujeres Gestantes entre 35 y 37 Semanas del Hospital “José Carrasco Arteaga” *Rev Med HJCA* 2015; 7(2): 106-110.
19. Sabater S, Moreno R, Campos A, Javier Pardo F. Utilización del medio CHROMagar orientation en la detección de *Streptococcus agalactiae* en gestantes. *Enf Inf Microbiol Clin*. 2010;28(8): 563-564
20. Alvarez CA, Toraño PG, Llanes CR. Colonización recto/vaginal por *Streptococcus agalactiae* en gestantes cubanas. *Rev Cub Med Tropical*. 2014;66(3):415-423
21. Blanco JA. Prevalencia y Factores asociados a la colonización de *Streptococcus beta hemolítico grupo B* en gestantes mayores de 35 semanas atendidas en el Hospital Alemán Nicaragüense en el departamento de Gineco-Obstetricia en el periodo 2017. [Tesis] Managua: Hospital Alemán Nicaragüense, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; 2018.

22. Campo CH, Martínez MF, Otero JC, Rincón G. Prevalencia de colonización vagino-rectal por *Streptococcus agalactiae* y su perfil de sensibilidad en mujeres embarazadas atendidas en un hospital de tercer nivel. *Biomédica*. 2019;39(4).
23. Álvarez-Santás EV, Jaqueti-Aroca J, García-Arata I, Molina-Esteban L, García-Martínez J, Prieto-Menchero S. Tasas de colonización por *Streptococcus agalactiae* en gestantes españolas y extranjeras en el Hospital Universitario de Fuenlabrada. *Rev Esp Quimioter*. 2018; 31(3): 274–277.
24. Scarparo C, Piccoli P, Ricordi P, Scagnelli M. Evaluación comparativa de dos medios comerciales cromogénicos para la detección e identificación presuntiva de patógenos del tracto urinario *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002; 21 (4), 283–289.
25. Soma-Pillay P, Catherine NP, Tolppanen H, Mebazaa A, Tolppanen H, Mebazaa A. Physiological changes in pregnancy. *Cardiovasc J Afr*. 2016; 27(2): 89–94.
26. Collegi Oficial Infermeres I Infermers. Sistema Urinario: Anatomia. *Infermera virtual* [Articulo Online] Disponible en: <https://www.infermeravirtual.com/files/media/file/103/Sistema%20urinario.pdf?1358605607> Fecha de Acceso: 20/04/19
27. Estrada A, Figueroa RD, Villagrana ZR. Infección de vías urinarias en la mujer embarazada. Importancia del escrutinio de bacteriuria asintomática durante la gestación. *Perinatol Rep Hum*; 2010; 24(3): 182-186.
28. Planned Parenthood. EMBARAZO. Etapas del embarazo. [Online] Planned Parenthood Federation of America Inc, 2011. [Citado 12 de noviembre del 2018]. Disponible en: <https://www.plannedparenthood.org/es/temas-de-salud/embarazo/etapas-del-embarazo> Fecha de Acceso: 29/04/19
29. Ministerio de la Sanidad. Guía práctica para la mujer embarazada. Madrid: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad; 2014.
30. Álvarez CG. La microbiota vaginal en las diferentes etapas de la vida de la mujer. Oct 28, 2019, El Probiotico [Articulo online]. <https://www.elprobiotico.com/microbiota-vaginal-etapas-mujer/> Fecha de Acceso: 2/05/19
31. Ferreres I. El pH vaginal en el embarazo. *Matronas Prof*. 2008; 9(4): 18-20
32. Chamorro LJ. Frecuencia de Vaginosis bacteriana en citologías vaginales de mujeres embarazadas entre los 15-50 años que acuden a control en el hospital general docente de caldero. Universidad central del ecuador; 2018.
33. Chan GJ, Lee AC, Baqui AH, Tan J, Black RE. Prevalence of early

34. Toro-Moreno AC, Martínez-Sánchez LM, Restrepo AM, Jaramillo-Jaramillo LI, Amariz-Ortiz JH, Obregon-Calero M, et al. Colonización vaginal y anorectal por *Streptococcus agalactiae* en gestantes de los Hospitales Nacionales Cayetano Heredia y Arzobispo Loayza. *Rev Med Hered.* 2004;15(3):144-50
35. Stoner TD, Weston TA, Trejo J, Doran KS. Group B streptococcal infection and activation of human astrocytes. *PLoS One.* 2015; 10(6):e0128431.
36. Whidbey C, Harrell MI, Burnside K, Ngo L, Becraft AK, Iyer LM, et al. A hemolytic pigment of Group B *Streptococcus* allows bacterial penetration of human placenta. *J Exp Med.* 2013; 210(6):1265-81.
37. Seliga-Siwecka JP, Kornacka MK. Neonatal outcome of preterm infants born to mothers with abnormal genital tract colonisation and chorioamnionitis: a cohort study. *Early Hum Dev.* 2013; 89(5):271-5.
38. Jahromi NB, Poorarian S, Poorbarfehee S. The prevalence and adverse effects of group B streptococcal colonization during pregnancy. *Arch Iran Med.* 2008; 11(6):654-7.
39. Toro-Moreno AC, Martínez-Sánchez LM, Restrepo-Arango M, Jaramillo-Jaramillo LI. *Streptococcus* spp. en el embarazo, patología y avances en su detección temprana. *Rev Per Gin Obst.* 2016;62(2):209-217.
40. Jahromi NB, Poorarian S, Poorbarfehee S. The prevalence and adverse effects of group B streptococcal colonization during pregnancy. *Arch Iran Med.* 2008;11(6):654-7
41. Le Doare K, Allen L, Kampmann B, Heath PT, Taylor S, Hesselning AC, et al. Anti-group B *Streptococcus* antibody in infants born to mothers with human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Vaccine.* 2015; 33(5):621-7.
42. Chung MY, Ko DJ, Chen CC, Huang CB, Chung CH, Chen FS, et al. Neonatal group B streptococcal infection: a 7-year experience. *Chang Gung Med J.* 2004; 27(7):501-8.
43. Mittal P, Wing, D. 749 Urinary Tract Infections in Pregnancy. *Clinics Perinatol.* 2005; 32: -764.
44. Magnet A, Beltrán D, Crespo A. Infecciones Urinarias en el Embarazo: Diagnóstico y Tratamiento. *Clín Urol Complutense.* 1997; 5: 203-208.
45. Álvarez G, Echeverría J, Garau A, Lens V. Infección Urinaria y embarazo. Diagnóstico y Terapéutica. *Rev Posg VI Cátedra de Medicina.* 2006; 155: 20-23pág.
46. Andreu A, Cacho J, Coira A, Laped J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto. *Enferm Infec Microbiol Clín.* 2011; 29(1):52-57.

47. Garcia L, Isenberg H. Clinical Microbiology Procedures. 3th Edition. Washington DC: ASM ASM Press; 2010.
48. Vargas L, Vila A, Lanza A. Utilidad del sistema VITEK en la identificación bacteriana y estudios de sensibilidad antimicrobiana. Acta bioquímica clínica latinoamericana 39(1):19-25: Argentina;2005
49. Fauci A, Braunwald E, Kasper D. Harrison Principios de Medicina Interna. 16va Edición. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España; 2005.
50. Cabero L, Saldívar D, Cabrillo E. Obstetricia y Medicina Materno-Fetal. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2007.
51. Fraile MR, López MC. Streptococcus agalactiae. Madrid: SEIMC, Control de calidad; 2014.
52. Alós I, Domingo A, et al. Prevención de la infección perinatal por estreptococo del grupo B. Recomendaciones españolas. Actualización 2012. Documento de consenso SEIMC/SEGO/SEN/SEQ/SEMFYC.Elsevier;2012
53. Ray C, Ryan KJ. Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases Chicago: McGraw-Hill; 2004
54. Colegio de Médicos de la Provincia de Buenos Aires Distrito III. Guía de Procedimientos en Obstetricia Basados en la Evidencia. Buenos Aires: Fondo de Resguardo Profesional; 2018.
55. Palacios-Saucedo GC, Hernández-Hernández TI, Rivera-Morales LG, Briones-Lara E, Caballero-Trejo A, Vázquez-Guillén JM, et al. Infección perinatal por estreptococo del grupo B: panorama global, en América Latina y en México. Gac Med Mex. 2017;153:361-70
56. Boyer KM, Gotoff SP. Prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease with selective intrapartum chemoprophylaxis. N Engl J Med 1986;314:1665–9.
57. Edwards RK, Jamie WE, Sterner D, Gentry S, Counts K, Duff P. Intrapartum Antibiotic Prophylaxis and Early-Onset Neonatal Sepsis Patterns. Infect Dis Obstet Gynecol. 2003;11(4):221–226.
58. Chow KM, Hui AC, Szeto CC. Neurotoxicity induced by beta-lactam antibiotics: from bench to bedside. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005; 24:649–53.
59. de Cueto M, Sanchez MJ, Sampedro A, Miranda JA, Herruzo AJ, Rosa-Fraile M. Timing of intrapartum ampicillin and prevention of vertical transmission of group B Streptococcus. Obstet Gynecol 1998; 91:112–4.

60. Popovic J, Grujic Z, Sabo A. Influence of pregnancy on ceftriaxone, cefazolin and gentamicin pharmacokinetics in caesarean vs. nonpregnant sectioned women. *J Clin Pharm Ther* 2007; 32:595–602.
61. Muller A, Mouton J, Oostvogel P, Dorr PJ, Voskuyl RA, DeJong J, et al. Pharmacokinetics of clindamycin in pregnant women in the peripartum period. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; 54(5): 2175-2181.
62. Lim DV, Morales WJ, Walsh AF, Kazanis D. Reduction of morbidity and mortality rates for neonatal group B streptococcal disease through early diagnosis and chemoprophylaxis. *J Clin Microbiol*. 1986;23(3):489-92.
63. Allardice JG, Baskett TF, Seshia MM, Bowman N, Malazdrewicz R. Perinatal group B streptococcal colonization and infection. *Am J Obstet Gynecol*1982; 142:617–20.
64. Garland SM1, Fliegner JR. Group B streptococcus (GBS) and neonatal infections: the case for intrapartum chemoprophylaxis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 1991; 31(2):119-22.
65. Schuchat A, Wenger JD. Epidemiology of group B streptococcal disease: risk factors, prevention strategies, and vaccine development. *Epidemiol Rev*. 1994;16(2):374-402.
66. Edwards MS. Group B streptococcal conjugate vaccine: a timely concept for which the time has come. *Hum Vaccin*. 2008; 4(6):444-8.
67. Hernández SR, Fernández CC, Baptista LM. Metodología de la Investigación. 6ta Ed. México: Mc Graw Hill; 2018
68. Soto PJ, Guillén OA, Rojas LR. Manual de Procedimiento para el Cultivo de Orina (Urocultivo). Lima: Sociedad Científica Peruana de Microbiología; 2012.

ANEXOS

Anexo 1

Anexo A

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

NÚMERO DE FICHA :

1. DATOS:

EDAD :

SEMANA DE GESTACION :

BACTERIA :

SERVICIO DE HOSPITALIZACION : () GinecoObst.

() GinecoObst. Alto RIESGO

() Consulta Externa

2. INFORME DEL UROCULTIVO

COLORACION GRAM:

N° RCTO AS:

CHROMAGAR: COLONIAS CELESTES

✓ POSITIVO (1)

✓ NEGATIVO (2)

3. ESPECIE AISLADA - VITEK

•

• **Observaciones**

Anexo B

NÚMERO DE FICHA :

ESPECIE AISLADA – VITEK :

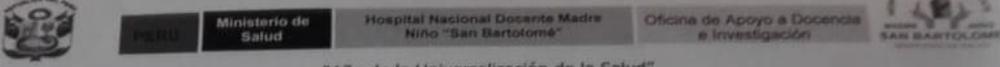
ANTIBIOGRAMA (M100-S28) CLSI

ANTIBIOTICO	INTERPRETACION		
	SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
PENICILINA			
AMPICILINA			
LEVOFLOXACINA			
VANCOMICINA			
ERITROMICINA			
CLINDAMICINA			

Anexo 2

Anexo A

Permiso Otorgado Del Hospital San Bartolomé.


"Año de la Universalización de la Salud"

Lima, 16 de setiembre de 2020

OFICIO N°0418-2020-OADI-HONADOMANI-SB

CAROLINA MARISOL PEREZ LUJAN
ERIKA FRIDA FRANCIA SALVADOR
Investigadoras Principales
Presente.-

Expediente N°03791-20

Tengo el agrado de dirigirme a ustedes para saludarlas cordialmente y en relación al Proyecto de Tesis titulado:

"UTILIDAD DEL MEDIO CHROMAGAR ORIENTATION, PARA LA IDENTIFICACION DE *Streptococcus agalactiae* EN UROCULTIVOS DE GESTANTES EN EL HOSPITAL SAN BARTOLOME, ENERO 2016 A MARZO 2019, LIMA – PERU".

Al respecto se informa lo siguiente:

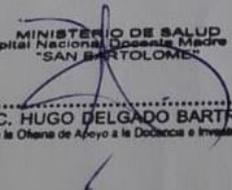
El planteamiento, la metodología estadística propuesta, así como el plan de análisis de los resultados a obtener son apropiados para el estudio.

Conclusión:

El Comité Investigación del HONADOMANI San Bartolomé y el Comité Institucional de Ética en Investigación, aprueban de manera expedita el proyecto de Investigación con **Exp. N°03791-20**.

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

Atentamente.



MINISTERIO DE SALUD
Hospital Nacional Docente Madre Niño
"SAN BARTOLOME"
MC. HUGO DELGADO BARTRA
Jefe de la Oficina de Apoyo a la Docencia e Investigación

HDB/vma
cc. archivo

Av. Alfonso Ugarte 825 4to piso/Lima Perú Teléfono 2010400 anexo 16