



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE AGENTES
COLONIZANTES E INFECTANTES DEL FLUJO
VAGINAL DE MUJERES QUE ASISTEN AL
CENTRO DE SALUD JOSÉ DIONISIO
ASTABURUAGA DE TALCA

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA

ALUMNO: Joselin Giselle Moreno Tapia.
PROFESOR GUÍA: T.M. Cs. Paulina Abaca C.

Talca-Chile

2019

**AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN
DE MEMORIAS DE PREGRADO Y TESIS DE POSTGRADO**

Yo, **Joselin Giselle Moreno Tapia** cédula de Identidad N° **18.892.513-8**
autor de la memoria o tesis que se señala a continuación, SI autorizo a la Universidad de Talca para
publicar en forma total o parcial, tanto en formato papel y/o electrónico, copias de mi trabajo.

Esta autorización se otorga en el marco de la Ley N° 20.435 que modifica la Ley N° 17.336 sobre Propiedad
Intelectual, con carácter gratuito y no exclusivo para la Universidad.

Título de la memoria o tesis:	ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE AGENTES COLONIZANTES E INFECTANTES DEL FLUJO VAGINAL DE MUJERES QUE ASISTEN AL CENTRO DE SALUD JOSÉ DIONISIO ASTABURUAGA DE TALCA
Unidad Académica:	MICROBIOLOGÍA
Carrera o Programa:	TECNOLOGÍA MÉDICA
Título y/o grado al que se opta:	LICENCIADA EN TECNOLOGÍA MÉDICA
Nota de calificación	6.9



Firma de Alumno	
Rut:	<u>18.892.513-8</u>
Fecha:	<u>28 / 02 / 19</u>

ÍNDICE

I. RESUMEN.....	6
II. INTRODUCCIÓN.....	7 y 8
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	9, 10, 11
3.1 Ecología Vaginal	
3.1.1 Diversidad microbiana de la microbiota vaginal.....	12, 13
3.1.2 Efecto del estrógeno en el ecosistema vaginal.....	14
3.1.3 Estrés y salud vaginal.....	15 y 16
3.2 Vaginosis Bacteriana	
3.2.1 Importancia clínica.....	16 y 17
3.2.2 En la mujer en edad fértil.....	17
3.2.3 En la mujer durante el embarazo.....	18
3.3 Microorganismos implicados en la Vaginosis Bacteriana.....	18 y 19
3.4 Criterios diagnósticos de Vaginosis Bacteriana.....	20
3.4.1 Criterios de Amsel.....	20
3.4.2 Criterios de Nugent.....	21 y 22
3.5 <i>Gardnerella vaginalis</i>	
3.5.1 Taxonomía.....	22
3.5.2 Manifestaciones clínicas.....	23
3.5.3 Factores de riesgo de los pacientes.....	23

3.5	<i>Candida albicans</i>	
3.6.1	Generalidades <i>Candida albicans</i>	24
3.6.2	Manifestaciones clínicas producidas por <i>Candida albicans</i>	25
3.6.3	Identificación de <i>Candida albicans</i>	25 y 26
3.6.4	Tratamiento <i>Candida albicans</i>	26
3.7	<i>Streptococcus spp.</i>	
3.7.1	Generalidades del género <i>Streptococcus</i>	27
3.7.2	Clasificación serológica de los <i>Streptococcus</i> β -hemolíticos.....	28
3.7.3	Identificación <i>Streptococcus agalactiae</i>	28
3.7.3.1	Agar Sangre.....	29
3.7.3.2	Test de CAMP.....	29
3.7.3.3	BBL Streptocard Enzyme Latex Test Kit.....	30
3.8	<i>Escherichia coli</i>	
3.8.1	<i>E. coli</i> e infección vaginal.....	30
3.8.2	ExPEC.....	32
3.8	<i>Enterococcus spp</i>	
3.9.1	Generalidades <i>Enterococcus spp</i>	32
3.9.2	Características morfológicas.....	32 y 33
3.9.3	Agar Enterococcosel.....	34

IV. OBJETIVOS

4.1	Objetivos generales.....	35
-----	--------------------------	----

4.2 Objetivos específicos.....	35
V. MATERIALES Y MÉTODOS	
5.1 Población estudiada.....	36
5.2 Examen clínico y recolección de muestras.....	36 y 37
5.3 Cultivos e identificación.....	37
5.3.1 Pruebas primarias	
5.3.1.1 Olor o prueba de aminas.....	37
5.3.1.2 Examen directo.....	37
5.3.2 Cultivos.....	38
5.4 Análisis estadístico.....	38
VI. RESULTADOS.....	39, 40, 41 y 42
VII. DISCUSIÓN.....	43, 44, 45, 46, 47 y 48
VII. CONCLUSIÓN.....	49
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	50, 51, 52 y 53

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Géneros de microorganismos que se encuentran en la vagina de mujeres sanas.....	8
TABLA 2: Cálculo del valor numérico (score) basado en los morfotipos según Nugent...	21
TABLA 3: Clasificación serológica de SGB.....	29

TABLA 4: Morfología de colonia característica en Agar MacConkey.....	34
TABLA 5: Características de las pacientes evaluadas.....	42
TABLA 6: Frecuencia de microbiota normal y agentes causantes de infecciones vaginales en mujeres embarazadas y no embarazadas.....	43
TABLA 7: Frecuencia de infecciones vaginales en relación con la edad de las pacientes...45	
TABLA 8: Distribución por rangos de edad de microorganismos aislados.....	45

ÍNDICE DE TABLAS

FIGURA 1: Patrones de hemólisis de SGB.....	28
FIGURA 2: Frecuencia de bacterias aisladas en mujeres embarazadas.....	44

I. RESUMEN

Los microorganismos están presentes en todo nuestro organismo. Ahí realizan funciones importantes: ayudan a nuestro cuerpo a digerir los alimentos, a procesar las vitaminas y a combatir las enfermedades. En la vagina, el equilibrio de microorganismos es saludable. Pero cuando se altera el equilibrio, o si se introduce un nuevo microorganismo, es posible que se produzca una infección vaginal. ⁽¹⁾

El objetivo de la presente investigación busca determinar la prevalencia de los agentes etiológicos presentes en el flujo vaginal de mujeres que asisten al centro de salud José Dionisio Astaburuaga de Talca.

Materiales y métodos: estudio de prevalencia. Se tomaron muestras de 100 mujeres que asisten a consulta ginecológica del centro de salud José Dionisio Astaburuaga de Talca, entre las edades de 18 y 65 años. A todas las pacientes se les tomó muestras de flujo vaginal para la identificación microscópica de células clave (células epiteliales que contienen bacterias, uno de los criterios para la identificación de *Gardnerella vaginalis*), *S. Agalactiae*, *E.coli*, *Enterococcus spp.* y levaduras e hifas. Se hicieron cultivos en agar sangre, Mac Conkey, CHROMagar *Candida*, agar Enterococcosel, además de pruebas para verificar los criterios de Amsel para la pesquisa de *Gardnerella vaginalis*.

Finalizando se puede concluir que es de vital importancia establecer la prevalencia de estos agentes etiológicos y su portación en la población femenina para que de esta forma se puedan prevenir y/o tratar a tiempo distintas infecciones vaginales como la portación de *Streptococcus agalactiae* en embarazadas lo que puede afectar a la madre como al hijo al momento y post parto.

II. INTRODUCCIÓN

En condiciones normales, la vagina está colonizada por diversos microorganismos que conviven en armonía y forman el ecosistema vaginal. Se considera que este nicho ecológico es el más dinámico del organismo, ya que su población heterogénea microbiana, sufre modificaciones por el nivel hormonal, el cual varía según la edad.

Se plantea que 96 % de la microbiota vaginal está constituida por diferentes especies de lactobacilos y únicamente 4 % por bacterias, entre las cuales figuran: estafilococos (*S. aureus*, con una frecuencia menor que las especies coagulasa-negativas), estreptococos (incluido el estreptococo del grupo B), así como enterococos, *Gardnerella*, *Mycoplasma*, miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, diversas bacterias anaerobias y hongos de los géneros *Candida*, *Torulopsis glabrata* y *Geotrichum*, que en pequeña cantidad no causan ningún daño, pero cuando aumentan pueden originar procesos patológicos.⁽²⁾

Al originarse un cambio en las condiciones que mantienen el equilibrio de la vagina, se produce la disminución o desaparición del efecto protector de la microbiota lactobacilar y los microorganismos endógenos potencialmente patógenos que se encuentran en la mucosa (*Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis* y bacterias anaerobias), proliferan a una concentración que produce síntomas. Dicha alteración también puede favorecer la infección por microorganismos patógenos transmitidos sexualmente, tales como *Trichomonas vaginalis*, *N. gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis*.⁽¹⁾

En la tabla 1 se presenta una relación de los microorganismos que se detectan con regularidad en la vagina de mujeres sanas.

Tabla 1: Géneros de microorganismos que se encuentran en la vagina de mujeres sanas

Cocáceas y bacilos Gram positivo anaerobios aerotolerantes	<i>Lactobacillus</i> <i>Streptococcus</i>
Cocáceas y bacilos Gram positivo anaerobios facultativos	<i>Crynebacterium</i> <i>Gardnerella</i> <i>Staphylococcus</i> (fundamentalmente <i>S. epidermidis</i>)
Bacilos Gram negativo anaerobios facultativos	<i>Escherichia</i> <i>Klebsiella</i> <i>Proteus</i>
<i>Mycoplasma</i>	<i>Mycoplasma</i> (sobretudo <i>M. hominis</i>) <i>Ureaplasma</i>
Bacilos y cocáceas Gram positivo anaerobios estrictos	<i>Atopobium</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Clostridium</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Eubacterium</i>
Bacilos Gram negativo anaerobios estrictos	<i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i>

Los estudios y/o investigaciones sobre la etiología de los agentes ya sean bacterianos o micóticos son necesarios con el fin de orientar programas de control y prevención de infecciones vaginales o vaginitis junto con la búsqueda de la portación de *Streptococcus agalactiae*, su oportuna identificación y tratamiento durante el embarazo y parto, ha mostrado ser útil en la prevención de secuelas en el recién nacido y para dar una herramienta al médico en la orientación del diagnóstico y el tratamiento.

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La Vaginosis Bacteriana (VB) es una patología del tracto genital inferior con mayor importancia en la etapa fértil de la mujer por el peligro de provocar Ruptura Prematura de Membrana durante la gestación y aumento de riesgo de la adquisición o propagación de infecciones por el HIV1, VHS2 y Papiloma virus. La etiología es polimicrobiana abarcando junto a *Gardnerella vaginalis* distintas especies de anaerobios. Ante el descubrimiento de distintos mecanismos de virulencia en *Gardnerella vaginalis* autores como Swidsinski y Gelber la señalan como patógeno iniciador de la VB.⁽³⁾

Las infecciones del aparato genital femenino, además de los problemas físicos y emocionales que ocasionan en las pacientes, constituyen una pérdida económica de proporciones apreciables al sistema de salud, tanto en las mujeres de países industrializados como en la población femenina de países en vías de desarrollo.

Entre los factores que pueden explicar la mayor frecuencia de estas infecciones se incluyen: el aborto provocado que, en los países en vías de desarrollo, constituye una causa importante de graves y mortales cuadros infecciosos; el aumento de las exploraciones diagnósticas gineco-obstétricas, fomentadas por los avances tecnológicos y el aumento de las intervenciones quirúrgicas abdominales y vaginales. En todos estos procedimientos se altera el ecosistema natural del aparato reproductor femenino o se produce la introducción de gérmenes patógenos externos. Otro factor importante lo constituye el explosivo aumento de las infecciones de transmisión sexual, principal fuente de infecciones exógenas.⁽⁴⁾

El uso de dispositivos intrauterinos y de duchas vaginales, la conducta sexual promiscua, el embarazo, los tratamientos hormonales y el padecimiento de enfermedades que produzcan

depresión del sistema inmunológico, como la diabetes mellitus descompensada y el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), constituyen otros factores que predisponen a la mujer a estas infecciones.

Las manifestaciones clínicas cursan de forma asintomática en el 50 % de las pacientes con vaginosis bacteriana. En los casos sintomáticos se puede presentar con mayor frecuencia una leucorrea moderada o abundante, fetidez (referida como olor a pescado) y prurito vulvar. Menos frecuentes son los síntomas irritativos como ardor vulvar, disuria y dispareunia. La fetidez se puede incrementar en los periodos de menstruación y en el acto sexual desprotegido, pues la alcalinidad de la sangre y el semen favorecen la liberación de las aminas volátiles. En la VB el pH suele estar por encima de 4,5. Entre las complicaciones que puede generar se relaciona con patologías obstétricas, ginecológicas y del tracto urinario. En las gestantes se asocia a rotura prematura de membranas, aborto espontáneo, corioamnionitis y endometritis puerperal. Se ha encontrado microbiota característica de VB en endometrio y trompas de mujeres con enfermedad inflamatoria pélvica y la presencia de VB se ha asociado con endometritis, displasia cervical, salpingitis, infecciones recurrentes del tracto urinario, infertilidad y enfermedad inflamatoria pélvica después de practicar procedimientos invasivos como histerectomía, biopsia endometrial, histerosalpingografía, colocación de DIU, cesárea y legrado.^(5, 6)

El ecosistema vaginal es un complejo sistema de microorganismos interactuando con factores del huésped, que mantienen ese equilibrio. La microbiota endógena consiste en una variedad de bacterias que incluyen aerobias, facultativas y bacterias anaerobias obligadas. Esos organismos existen en relaciones comensales, sinergistas y antagonistas. Por ello es importante conocer qué factores controlan el delicado equilibrio del ecosistema vaginal y cuáles factores endógenos y exógenos pueden romper ese sistema.⁽⁴⁾

En 1955 *Gardner y Dukes* describen un síndrome vaginal nuevo, inicialmente conocido como "vaginitis inespecífica", e identificaron un nuevo organismo, nombrado *Haemophilus vaginalis* el cual se pensó que era el agente causal. Este microorganismo fue llamado por corto tiempo *Corynebacterium vaginalis* ahora es identificado como *Gardnerella vaginalis*.⁽⁶⁾

La vaginosis bacteriana no está sólo asociada con la presencia de *Gardnerella vaginalis*, la etiología de esta afección se ha atribuido al denominado complejo GAMB dado por: *Gardnerella vaginalis* asociada con agentes anaerobios como son Bacteroides; Peptococos, Peptoestreptococos, Enterobacterias, además de *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* y *Mobiluncus curtissii*.⁽¹⁾

La proliferación de estos gérmenes producto de la perturbación del ecosistema microbiano de la vagina con desplazamiento de los lactobacilos, produce un desequilibrio con producción de poliamidas por las bacterias anaerobias, así como ácidos orgánicos que son citotóxicos y producen exfoliación de las células vaginales que originan la secreción característica de esta entidad y el típico olor a pescado al volatizarse las aminas ante un pH alto, como ocurre con la presencia del semen o al agregársele a las secreciones una solución de hidróxido de potasio al 10 %.

Al ser una enfermedad polibacteriana, donde sus agentes etiológicos no están bien establecidos aún, el enfoque de su estudio debe ser diferente al de aquellas enfermedades con un agente causal único y conocido. Está bien documentado que en las pacientes con VB existe un desequilibrio microbiológico donde los lactobacilos (predominantes en la microbiota normal de la vagina) son reemplazados o superados por un gran número de bacterias anaerobias estrictas o facultativas, que están presentes en pequeñas concentraciones en la vagina sana y colonizan habitualmente el tracto digestivo bajo. Aún se desconoce cuáles son los eventos que desencadenan el establecimiento de la VB. Un gran porcentaje de las

pacientes la cursan de forma asintomática, mientras que otras pueden presentar una VB sintomática y recurrente con resistencia a los tratamientos normalmente efectivos. (8) Los métodos de diagnóstico disponibles en la actualidad no son lo suficientemente sensibles y específicos, por lo que los especialistas en el tema intentan encontrar un método potente para el diagnóstico eficaz de la enfermedad.

3.1 ECOLOGIA VAGINAL

3.1.1 Diversidad microbiana de la microbiota vaginal

La vagina humana es un órgano sumamente versátil a través del cual se puede ver afectada la salud de la mujer, pudiendo permitir o no una gestación, la finalización a término de un embarazo, así como la adquisición de una enfermedad como el VIH tan temible por sus consecuencias. En el año 1894 Döderlein fue quien hiciera el primer estudio de microbiota vaginal describiéndola como compuesta por bacilos Gram positivo (llamados posteriormente bacilos de Döderlein) y a los que hoy llamamos lactobacilos.⁽⁹⁾

El ecosistema de la mucosa vaginal está compuesto por un epitelio no queratinizado escamoso estratificado cubierto por una capa mucosa continuamente lubricada por el fluido cervicovaginal. Juntos, forman una barrera física y bioquímica de enormes proporciones contra organismos invasores extraños. Además de ser un medio ácido que contiene una variedad de moléculas antimicrobianas que incluyen anticuerpos (IgA e IgG), mucinas, β -defensinas, inhibidor de la proteasa leucocitaria secretora (SLPI), lidocaína asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL), proteína surfactante, etc. facilita el confinamiento de organismos exógenos.⁽⁹⁾

La vagina también alberga numerosos microorganismos (la "microbiota"), que existen (junto con sus genes y productos) en una relación mutualista regulada con el huésped (el "microbioma")⁽¹⁰⁾. Algunos de estos microorganismos, como las especies de *Lactobacillus*,

refuerzan la defensa contra la invasión y colonización por patógenos oportunistas. La composición de la microbiota / microbioma vaginal es dinámica y sufre cambios correspondientes a las fluctuaciones hormonales a lo largo de la vida reproductiva de la mujer, es decir, desde la pubertad hasta la menopausia y durante el embarazo.⁽¹¹⁾

La microbiota vaginal fisiológica normal fue descrita inicialmente en 1892 por Albert Döderlein como homogénea, que consiste solo en bacilos Gram positivo (bacilos de Döderlein), que se cree que se originan en el intestino y que actualmente se sabe que forman parte del género *Lactobacillus*.⁽¹²⁾ La evolución de este microbioma vaginal único se apoya en dos hipótesis evolutivas: la "hipótesis de riesgo de enfermedad" y la "hipótesis de protección obstétrica"⁽¹³⁾, que sugieren que la vagina humana está dominada selectivamente por *Lactobacillus* protector especies porque los humanos son más susceptibles a las enfermedades de transmisión sexual; y también con mayor riesgo de embarazo y complicaciones microbianas asociadas al parto.⁽¹¹⁾

Un número de especies protectoras de *Lactobacillus* domina la microbiota vaginal saludable en la mayoría de las mujeres en edad reproductiva. Los avances recientes en las técnicas de secuenciación de ADN han revelado que las especies de *Lactobacillus* dominantes en la microbiota vaginal incluyen *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* y *L. jensenii*, mientras que otros anaerobios incluyen *Gardnerella*, *Atopobium*, *Mobiluncus*, *Prevotella*, *Streptococcus*, *Ureaplasma*, etc., capaz de causar infecciones como la vaginosis bacteriana (VB) se mantiene latente por la acción protectora de los lactobacilos.

La prevalencia de estos organismos en la microbiota vaginal varía en diferentes razas / grupos étnicos y ubicaciones biogeográficas, con negros e hispanos que albergan más especies de bacterias anaeróbicas y muestran un pH vaginal más alto en presencia o ausencia de infección clínica. Las diferencias en la prevalencia también están relacionadas con las diferencias en el estilo de vida y las interacciones gen-ambiente.⁽¹⁴⁾ A diferencia de otras vísceras corporales como el intestino, el aumento de la diversidad de la microbiota vaginal

está relacionado con una mayor susceptibilidad a la enfermedad y resultados reproductivos negativos.⁽¹⁵⁾

3.1.2 Efecto del estrógeno en el ecosistema vaginal

El microbioma vaginal prepuberal está dominado por anaerobios, *E. coli* y estafilococos coagulasa-negativo y un porcentaje significativamente menor de glucógeno⁽¹¹⁾. En la pubertad, los niveles crecientes de estrógeno promueven la maduración, proliferación y acumulación de glucógeno en las células epiteliales vaginales. El glucógeno se cataboliza por α -amilasa humana en maltosa, maltotriosa y α -dextrinas, que luego se metabolizan en ácido láctico por distintas especies de *Lactobacillus*. Esto crea un ambiente ácido (pH, 3.5–4.5) propicio para el crecimiento de *Lactobacillus* a expensas de otras especies de bacterias anaeróbicas⁽¹⁶⁾. La dominancia de los lactobacilos disminuye a medida que los niveles de estrógeno disminuyen después de la menopausia, y aumenta con la terapia de reemplazo vaginal de estrógeno.⁽¹⁷⁾

La microbiota vaginal en el embarazo normal está predominada por los lactobacilos y es más estable que en el estado sin embarazo⁽¹⁴⁾. Esto puede explicarse por el alto nivel de estrógeno durante el embarazo que resulta en un aumento de la deposición de glucógeno vaginal que aumenta la proliferación de microbiota vaginal dominada por lactobacilos. Además, los estudios han demostrado que la menstruación altera de manera reversible la diversidad microbiana vaginal, con una disminución de aproximadamente 100 veces en *L. crispatus* y un aumento en *L. iners*, *G. vaginalis*, *P. bivia* y *A. vaginae*⁽¹⁸⁾. En esencia, el pH vaginal ácido normal en mujeres en edad reproductiva es impulsado por el estrógeno, el glucógeno y los lactobacilos⁽¹⁶⁾.

También se ha informado una relación directa intrigante entre la ostrogenización vaginal y la candidiasis en mujeres posmenopáusicas. Después de la menopausia, la acumulación de

glucógeno epitelial vaginal inducida por estrógenos se asocia con un aumento de la infección por *Candida albicans* que tiene glucógeno como un sustrato importante. En contraste, en las mujeres pre menopáusicas, la actividad de la α -amilasa que se correlaciona con el ácido láctico D- (pero no L-) y la producción de SLPI, NGAL, hialuronidasa-1 y matriz metaloproteinasa (MMP) -8, se redujo en las mujeres infectadas con *C. albicans* ⁽¹⁹⁾. La mayor disponibilidad de glucógeno secundaria a la exfoliación y lisis de las células epiteliales ricas en glucógeno en la luz vaginal por medio de enzimas degradantes de la matriz extracelular - hialuronidasa-1 y MMP-8, ácido láctico y citolisina podrían aumentar la actividad de α -amilasa ⁽¹⁹⁾.

3.1.3 Estrés y salud vaginal.

La influencia del estrés en la inmunidad vaginal ha sido objeto de mucha especulación. La respuesta inmunitaria puede verse afectada por la activación relacionada con el estrés del eje hipotalámico-hipofisario suprarrenal (HPA) y la secreción de hormona liberadora de corticotropina (CRH) del hipotálamo, que activa la liberación de cortisol de la corteza suprarrenal y la noradrenalina de los nervios simpáticos . El cortisol inhibe la maduración epitelial vaginal asociada al estrógeno y la acumulación de glucógeno y, en consecuencia, reduce la dominancia de los lactobacilos, mientras que la noradrenalina actúa de forma sinérgica con los mediadores inmunitarios para potenciar la liberación de citoquinas. El aumento inducido por el estrés en las hormonas corticales (cortisol y desoxicorticosterona) y la disminución resultante en la abundancia de lactobacilos pueden empeorar los síntomas vulvovaginales de la infección ⁽²⁰⁾. La reducción del glucógeno epitelial vaginal disminuye la producción de ácido láctico y la pérdida de sus actividades antiinflamatorias. Por lo tanto, se crea una flora vaginal disbiótica caracterizada por una reducción o pérdida de la dominancia de lactobacilos. El aumento concomitante de noradrenalina potencia la respuesta proinflamatoria y la proliferación de anaerobios patógenos estrictos y facultativos, así como otras ITS. En última instancia, el estrés exacerba la susceptibilidad y la gravedad de la infección vaginal ⁽²¹⁾.

Las distintas especies mencionadas de *Lactobacillus* mantienen al ecosistema vaginal en condiciones de salud mediante la producción de sustancias antimicrobianas las que inhiben las bacterias patógenas preservando el estado de salud a nivel vaginal. Entre las sustancias que producen se encuentran: peróxido de hidrógeno el cual es estable en este medio, bacteriocinas que son altamente activas y ácidos débiles como el ácido acético y láctico los que provienen de la fermentación del glucógeno secretado por las células epiteliales. ⁽²²⁾

La cantidad de H₂O₂ producida en el fluido vaginal de mujeres con microflora vaginal sana fue estimada en 1,0 a 15,5 ug/ml. ⁽²³⁾. Definitivamente estudios hechos por distintos autores reflejan que el control de la microbiota vaginal es un mecanismo complejo en el cual el H₂O₂ cumple un rol principal, se encuentra involucrado entre otros y su actuación depende de la naturaleza de los microorganismos blancos.

Además estos microorganismos son capaces de interferir con patógenos genitourinarios por mecanismos que incluyen la exclusión competitiva de las células superficiales con producción de adhesión inhibiendo compuestos surfactantes, autoagregación, hidrofobicidad superficial y co-agregación con otras especies bacterianas. ⁽²³⁾

3.2.- VAGINOSIS BACTERIANA

3.2.1.- Importancia clínica

Fue en el año 1984 que en Estocolmo se llevó a cabo el Primer simposio Internacional de Vaginosis Bacteriana, donde se denominó a esta patología con el ese mismo nombre, puesto que no es un proceso inflamatorio sino un sobrecrecimiento bacteriano.

Se trata de una infección del tracto genital inferior que puede desencadenar otras patologías como: enfermedad inflamatoria pélvica, infertilidad, parto prematuro, e incrementar el riesgo de contraer VIH. ⁽²⁴⁾

Entre los factores de riesgo de esta patología se encuentran: la posesión de más de una pareja sexual, el uso de duchas vaginales frecuentes, los tratamientos hormonales en mujeres en edad fértil (esto modifica la consistencia del moco cervical), la presencia de dispositivos intrauterinos y también se asocia con el estrés ⁽⁹⁾.

3.2.2.- En la mujer en edad fértil

La Vaginosis Bacteriana es una de las causas más frecuentes de consulta ginecológica, junto a la vulvovaginitis candidiásica. Estudios hechos tanto en América como en Europa hablan de una prevalencia entre 4,9 al 36 %. ⁽¹⁴⁾ Alrededor de un 50 % de pacientes, porcentaje que varía según distintos autores, suele presentarse en forma asintomática y existen controversias respecto del tratamiento en estos casos, solo se acuerda en general el tratamiento para controlar los síntomas o disminuir los riesgos en complicaciones que puedan surgir después de cirugías ginecológicas.

Si bien se han identificado ciertos factores como propicios en el desarrollo de la VB, como ser: el cambio de parejas o parejas múltiples, uso de dispositivos intrauterinos como anticonceptivos, uso reciente de antibióticos, el hábito de duchas vaginales, el fumar cigarrillos, también hoy lo que se sabe con certeza es que no es una enfermedad que se da como consecuencia de una infección sexual como es el caso de otras ITS.

Algunas pacientes suelen presentar recurrencias por lo que se suele repetir el tratamiento y es menester conseguir una buena recolonización con *Lactobacillus* que garantice una eficiente producción de H₂ O₂ y bacteriocinas. También se asocia esta patología con un incremento del riesgo de contraer VIH. El mecanismo potencial por el cual la Vaginosis Bacteriana podría incrementar la transmisión del VIH incluye los efectos sobre los

mediadores de la inmunidad local. Por otro lado el H₂O₂ que producen los lactobacilos pueden inhibir in vitro al VIH, de modo tal que esta ausencia en mujeres con VB las vuelve más vulnerables. ⁽²⁵⁾

3.2.3.- En la mujer durante el embarazo

En el caso de mujeres gestantes, la flora vaginal anormal y la VB están asociadas con un incremento del riesgo de parto prematuro (PP). La prevalencia de VB en el embarazo, es del 6 al 55%. ⁽²⁾ Esta patología está asociada con una endometritis subclínica la que podría crear un medio adverso para el desarrollo del embrión o feto, además existe el riesgo de una corioamnionitis donde se produce un incremento de las citoquinas proinflamatorias y prostaglandinas que podrían derivar en un parto prematuro. La colonización microbiana en cérvix, placenta y líquido amniótico y la producción de proteasa pueden llevar a una ruptura de membrana; también se ha sugerido que el nivel de producción de sialidasa y mucinasa en vagina es mayor en mujeres con VB, estas sustancias podrían interferir favoreciendo el PP.

Se considera Parto Prematuro a aquel nacimiento ocurrido con antelación a las 37 semanas de gestación. Las mujeres con mayor riesgo de (PP) son aquellas donde el diagnóstico de VB se realiza en estadios más tempranos en el embarazo que cuando la gestación está más avanzada. ⁽¹⁾

3.3 MICROORGANISMOS IMPLICADOS EN LA VAGINOSIS BACTERIANA

Este síndrome, se caracteriza por la disminución de la presencia de *Lactobacillus* con sobrecrecimiento de microbiota anaerobia preexistente (*Prevotella spp.*, *Peptostreptococcus spp.* y especies de *Mobiluncus*), *Gardnerella vaginalis* y *Mycoplasmas genitales* lo que provoca un incremento del pH vaginal.

Hoy se sabe que el diagnóstico de Vaginosis Bacteriana se correlaciona con la detección de otros géneros bacterianos anaerobios como *Atopobium*, *Bacteroides*, *Veillonella*, en las muestras vaginales. De todas maneras puede verse en la literatura que los estudios epidemiológicos de la VB están centrados en la presencia de *G. vaginalis* como patógeno dominante incluso en su aporte para la formación de biofilm.

La presencia de *E. coli* en secreciones vaginales, solo o acompañado de otros microorganismos, no ha tenido la importancia que se le asigna a esta bacteria cuando es aislada desde otras zonas anatómicas en el ser humano. En este contexto, existe discrepancia respecto de la conveniencia de instaurar una terapia antimicrobiana dirigida a erradicar este microorganismo. Actualmente, la vaginitis aeróbica se describe como la asociación entre cepas de *E. coli* y *Streptococcus agalactiae*, siendo esta la única instancia donde *E. coli* presenta responsabilidad etiológica ⁽²⁶⁾. Un reciente estudio en vagina de mujeres sanas, demostró la presencia de una enorme variedad de géneros y especies bacterianas, sin detectar cepas de *E. coli* ⁽²⁷⁾. En la literatura no se dispone de información respecto de los porcentajes de aislamiento de *E. coli* desde infecciones vaginales, ni tampoco de su asociación con agentes etiológicos conocidos.

Otro microorganismo implicado son las especies de *Enterococcus spp* las cuales son miembros importantes de la flora normal del tracto intestinal y son además consideradas miembros de la flora normal del tracto genital femenino; sin embargo, muchos de estos microorganismos han sido considerados patógenos oportunistas en la vaginosis bacteriana, especialmente *Enterococcus faecalis*.

3.4.- CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE LA VAGINOSIS BACTERIANA

En cuanto a la sintomatología que pueden señalar las pacientes está la presencia de flujo vaginal incrementado con presencia de mal olor o la existencia de irritación local, aunque una mitad de las mujeres no manifiestan tener estos síntomas no obstante algunos de ellos se detectan en el examen médico. Puede ocurrir que pase desapercibida esta afección debido a que algunas pacientes podrían considerar que la presencia de flujo estaría dentro de la condición de normalidad.

Para el diagnóstico de la VB se buscan signos que en la pesquisa del examen clínico suelen detectarse, como el hacer el examen pélvico y por otro lado la interpretación la observación microscópica de una coloración de Gram del extendido de fondo de saco vaginal, que ayuda a concretarlo.

3.4.1.- Criterios de Amsel

Para el diagnóstico clínico de VB se utilizan generalmente los criterios de Amsel definidos en 1983, por ser una herramienta práctica y se basan en la presencia de tres de los siguientes signos:

- a) flujo vaginal blanco grisáceo, homogéneo y fluido de consistencia lechosa.
- b) el pH superior a 4,5
- c) la alcalinización del flujo con HOK al 10% produce liberación de aminas
- d) presencia de células guía (clue cells) que son células de descamación vaginal con numerosa cantidad de bacterias adheridas.⁽²⁸⁾

No obstante estos criterios que suelen ser útiles para el diagnóstico de la VB no lo son para la totalidad de las pacientes, específicamente no lo es para aquellas mujeres asintomáticas que representan una cantidad cercana al 50%. Por lo tanto muchas veces resulta

subjetivo y además requiere del equipamiento de un microscopio en el lugar de atención de la paciente.

3.4.2.- Criterios de Nugent

Estos surgen como alternativa para el diagnóstico de VB basado en los morfotipos que pueden reconocerse mediante la coloración de Gram. La alta prevalencia de VB y la falta de síntomas en una proporción considerable de pacientes llevan al interrogante si la VB debería ser considerada como una variante de la microbiota vaginal o una enfermedad. Debido a que estos hallazgos pueden presentar variaciones entre distintas pacientes se han implementado técnicas microscópicas basadas en la coloración de Gram del frotis de la secreción vaginal. Esto requiere de la participación de profesionales bien entrenados.

Para esto se tiene en cuenta el método de Nugent y cols. (1991). Este se basa en el reconocimiento microscópico de tres morfotipos bacterianos como son: bacilos Gram positivo (lactobacilos), bacilos Gram negativo y Gram variables (*Gardnerella vaginalis* y *Bacteroides spp*) y bacilos Gram negativos curvos (*Mobiluncus spp*), según puede verse en la Tabla 2.

Tabla 2: Cálculo del valor numérico (score) basado en los morfotipos según Nugent

Morfotipos	Nº de microorganismos/campo microscópico de inmersión				
	ninguno	<1	1-4	5-30	>30
<i>Lactobacillus spp</i>	4	3	2	1	0
<i>Gardnerella</i> y bacilos Gram negativos anaerobios	0	1	2	3	4
<i>Mobiluncus spp</i>	0	1	1	2	2

Puntaje de referencia a asignar en la observación por microscopía de inmersión (x1000) en la evaluación de la composición de la flora vaginal. El puntaje de cada morfotipo (*Lactobacillus spp*, *Gardnerella* y Bacilos Gram negativos anaerobios, *Mobiluncus spp*) debe sumarse y así tener un puntaje total para su interpretación: VN: 0-3 indica flora vaginal normal; VN: 4-6 flora intermedia; VN >7 indica VB.

El valor numérico (VN) correspondiente a cada uno de los tres morfotipos debe sumarse para obtener el valor final y luego interpretar según se señala a continuación:

- Un VN de Nugent de 0-3 es considerado estado de equilibrio normal (flora lactobacilar).
- En cambio un VN comprendido entre 7-10 nos diagnostica una VB, puesto que se está ante un cambio de flora con ausencia de bacilos Gram positivos y presencia de altas concentraciones de *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides spp* y/o *Mobiluncus spp*.

Pero si estamos ante un rango de 4-6 se trata de una microbiota intermedia que fluctúa entre los dos extremos anteriormente señalados. ⁽²⁹⁾

3.5.- GARDNERELLA VAGINALIS

3.5.1.- Taxonomía

El primero en mencionar a este microorganismo como con características similares al género *Haemophilus*, aislado de vías genitourinarias (prostatitis en hombres y cervicitis en mujeres), Gardner y Dukes en 1955, quienes le dan el nombre de *Haemophilus vaginalis* a los cocobacilos Gram negativos aislados de pacientes con una entidad clínica que denominan vaginitis inespecífica.

En la actualidad este microorganismo está ubicado como:

Phylum: Actinobacteria	Stackebrandt et al., 1997
Clase: Actinobacteria	Stackebrandt et al., 1997
Subclase: Actinobacteridae	Stackebrandt et al., 1997
Orden: Bifidobacteriales	Stackebrandt et al., 1997
Familia: Bifidobacteriaceae	Stackebrandt et al., 1997

Género: Gardnerella

Greenwood & Pickett, 1979

Especie: *Gardnerella vaginalis*

Greenwood & Pickett, 1979**

3.5.2 Manifestaciones clínicas

Puede verse en forma de vaginitis asintomática o leve, o como flujo gris maloliente, homogéneo, acompañado de prurito. Los síntomas encontrados en una vaginosis bacteriana son cuatro, de los que con la demostración de 3 criterios el diagnóstico, será positivo.

- Descarga vaginal “delgada” (pero profusa)
- un pH mayor de 4 y 5
- Presencia de olor a pescado (incrementa en la actividad sexual o al agregar hidróxido de potasio al 10% en la prueba de células guía)
- La demostración de “clue cells” (mediante un examen microscópico).

3.5.3 Factores de riesgo en pacientes

- Duchas vaginales y coito frecuente.
- Múltiples parejas sexuales
- Uso de hormonales orales, antibióticos, diabetes, embarazos, y visitas frecuentes al ginecólogo.
- Contacto directo con secreciones infectadas (pacientes inmunosuprimidos)

El empleo de duchas vaginales, alcaliniza la vagina y si es frecuente, desencadena un trastorno de la flora vaginal normal facilitando la aparición de la vaginosis bacteriana. Entre los factores predisponentes se encuentra el empleo de hormonas orales y antibióticos los cuales trastornan la flora vaginal por disminuir la concentración de lactobacilos y otros miembros de la flora normal, por lo que permite la proliferación de hongos.

El embarazo y la diabetes se acompañan de una disminución de cualitativas de la inmunidad por células, lo que ocasiona una incidencia más elevada de vaginosis bacteriana. Las múltiples parejas sexuales aumentan el riesgo de contagio y más si se tiene antecedentes de infecciones urinarias.⁽³⁰⁾

3.6 CANDIDA ALBICANS

3.6.1 Generalidades de *Candida albicans*

Candida albicans es un hongo dimórfico, es decir, se desarrolla de forma distinta en función de la temperatura de crecimiento, como levadura, normalmente a 37°C en el huésped, y como hongo de aspecto filamentoso, a 25°C en la naturaleza. Pertenece al filo Ascomycota y se reproduce de forma asexual por gemación. En forma de levadura presenta un aspecto de células redondas u ovaladas, de 3-8 x 2-7 micras de tamaño, agrupadas en pequeños grupos, mientras que, en forma de hongo filamentoso, las células se alargan y se diversifican tomando la apariencia de filamentos, pseudo-hifas o pseudo-micelio.

El dimorfismo le permite evadir los mecanismos de defensa relacionados con la inmunidad celular del huésped. En forma de levadura se comporta como saprofita, conviviendo en simbiosis con el huésped, mientras que, en forma de hongo filamentoso, se comporta como un parásito patógeno produciendo síntomas en el huésped. En el humano se

puede encontrar en la microbiota de la piel, la cavidad oral, el tracto gastrointestinal, el sistema genitourinario y las heces o las deyecciones del hombre. ⁽³³⁾

3.6.2 Manifestaciones clínicas producidas por *Candida albicans*

Infección Candidiasis o moniliasis: infección superficial que aparece principalmente en individuos con las defensas bajas, afectando a la piel (intertrigo), a las mucosas (oral, genitourinaria o digestiva) y a las uñas (paroniquia o perionixis). Los síntomas son leves como: enrojecimiento, picazón y malestar. En personas con cáncer, trasplantados o con SIDA la infección puede hacerse sistémica (candidemia), y puede llegar a ser mortal.

Efectos en la maternidad: Candidiasis cutánea congénita (CCC) es una infección intrauterina congénita muy poco frecuente. Se adquiere por vía ascendente desde el tracto genital de la madre y se manifiesta de forma sistémica o cutánea en los seis primeros días de vida. La candidiasis cutánea neonatal es una infección adquirida durante el parto al pasar por el canal del parto o posnatalmente; se caracteriza por la candidiasis oral y la dermatitis del pañal.

3.6.3 Identificación de *Candida albicans*

Para ello se utilizó el CHROMagar Candida[®] es un medio selectivo y de diferenciación para el aislamiento de hongos. Con la inclusión de sustratos cromógenos en el medio, las colonias de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* producen colores diferentes, lo que permite la detección directa de estas especies de levaduras en la placa de aislamiento. Las colonias de *C. albicans* presentan un color de verde claro a mediano, las colonias de *C. tropicalis*, de azul verdoso a azul metálico y las colonias de *C. krusei*, rosado claro con borde blancuzco

ya que *Candida krusei* posee fosfatasa alcalina; otras especies también pueden presentar discreta actividad de esta última enzima y la variación en la tonalidad depende del sustrato cromógeno y la pigmentación natural de la levadura.⁽³⁴⁾ Es posible que otras especies de levaduras produzcan su color natural (crema) o presenten un color rosado o malva de claro a oscuro (por ejemplo, *Candida glabrata* y otras especies). Una ventaja adicional del medio es la fácil detección de cultivos mixtos de levaduras, debido a los diferentes colores que presentan sus colonias.⁽³⁵⁾

Peptonas especialmente seleccionadas suministran los nutrientes al CHROMagar Candida. La mezcla cromógena patentada está formada por sustratos artificiales (cromógenos), que liberan compuestos de colores diferentes al ser degradados por enzimas específicas. De esta manera es posible diferenciar determinadas especies o detectar ciertos grupos de organismos con sólo un mínimo de pruebas de confirmación. El cloranfenicol inhibe la mayoría de los contaminantes bacterianos.⁽³⁶⁾

3.6.4 Tratamiento de la candidiasis

Para el tratamiento correcto de las candidiasis se debe intentar eliminar o controlar las enfermedades subyacentes y erradicar la infección mediante el empleo de antifúngicos apropiados. La nistatina y los azoles tópicos, como miconazol, clotrimazol o econazol, son productos útiles en el tratamiento de las candidiasis superficiales, mientras que anfotericina B, fluconazol e itraconazol son más eficaces en el tratamiento de las candidiasis invasoras.⁽³⁷⁾

3.7 STREPTOCOCCUS SPP

3.7.1 Generalidades del Género *Streptococcus spp*

Las especies del género *Streptococcus spp*. Son cocáceas Gram positivo, anaerobias facultativas, esféricas u ovales que miden aproximadamente 2 μm de diámetro. Son sensibles a las variaciones de pH y su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C.

Algunas especies pueden ser patógenas, otras son comensales avirulentas, que forman parte de la microbiota normal del tracto respiratorio y genital, colonizando, además, piel y membranas mucosas.⁽³⁸⁾ Una forma de clasificar a los *Streptococcus spp*. En el laboratorio clínico, es basándose en los patrones de hemólisis que presentan las cepas en el medio de cultivo agar sangre de cordero al 5%, siendo esta la característica más útil para la identificación de los *Streptococcus spp*. La acción hemolítica de los *Streptococcus spp*. En agar sangre de cordero, fue descrita y definida por Brown en 1919, lo que permitió caracterizar a las colonias que crecen en la superficie estriada de las placas de agar sangre en α , β , y γ - hemolíticas.⁽³⁹⁾

- α -hemólisis: lisis parcial de los eritrocitos en agar sangre de cordero, observándose un halo verdoso alrededor de la colonia.
- β -hemólisis: lisis completa de los eritrocitos en agar sangre de cordero, observándose un halo transparente alrededor de la colonia.
- γ -hemólisis: las especies no producen hemólisis en las placas de agar sangre, por lo tanto no se observa halo alrededor de la colonia.

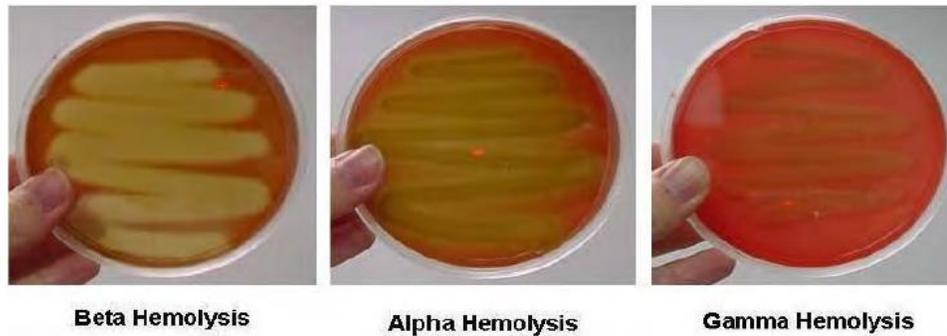


Figura 1 En esta imagen se muestra los tres patrones de hemólisis en la placa de agar sangre de cordero producido por el género *Streptococcus* spp.

3.7.2 Clasificación serológica de los *Streptococcus* β -hemolíticos

Rebeca Lancefield en 1933, desarrolló un esquema de clasificación serológica de los *Streptococcus* β - hemolíticos patógenos que producen enfermedad en los seres humanos, basado en la detección de antígenos de hidratos de carbono específicos de la pared celular de estos microorganismos, denominado carbohidrato de Lancefield, el cual agrupa a los *Streptococcus* β - hemolíticos en los grupos: A, B, C, G y F. Con este esquema sólo se pueden clasificar los *Streptococcus* β - hemolítico.⁽⁴⁰⁾

Grupo de Lancefield	Tamaño de la colonia	Especies
A	Grande	<i>Streptococcus pyogenes</i>
A	Pequeña	<i>Streptococcus grupo anginosus</i>
B	Grande	<i>Streptococcus agalactiae</i>
C	Grande	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
C, F	Pequeña	<i>Streptococcus grupo anginosus</i>
G	Grande	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
G	Pequeña	<i>Streptococcus grupo anginosus</i>

Tabla 3 En esta imagen se muestra la clasificación serológica de los *Streptococcus* β -hemolíticos. Las cepas de *Streptococcus* con antígenos de los grupos A, C o G, son subdivididas de acuerdo al tamaño de la colonia. Las cepas que forman una colonia grande y que presentan el antígeno A, C o G son consideradas *Streptococcus* piogénico. Las cepas β -

Hemolíticas que también tienen los antígenos A, C o G pero que forman una colonia pequeña son considerados cepas del grupo anginosus. ⁽⁴¹⁾

3.7.3 Identificación de *Streptococcus agalactiae*

3.7.3.1 Agar sangre: El agar sangre es un medio enriquecido utilizado para la siembra de la mayoría de las muestras clínicas, permite el crecimiento de bacterias poco exigentes como exigentes. Este medio, además, detecta la producción de hemolisinas, enzimas bacterianas que provocan la lisis de los eritrocitos (α , β y γ hemólisis). *Streptococcus agalactiae* presenta características propias de la colonia una vez sembrado en placas de agar sangre. Se observan colonias medianas de 2 mm de diámetro aproximadamente, de color grisáceo, con β -hemólisis acotada a la colonia.

3.7.3.2 Test de CAMP: La identificación presuntiva de los *Streptococcus* grupo B puede realizarse a partir de esta prueba. El fenómeno hemolítico fue descrito por primera vez en el año 1944 por Christie, Atkins y Munch-Petersen, cuyos nombres proporcionan el acrónimo CAMP de la prueba. ^(40, 42) La actividad hemolítica de la β -hemolisina causada por la mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus* es intensificada por una proteína extracelular denominada factor de monofosfato de adenina cíclica (factor CAMP) producida por los *Streptococcus* del grupo B. La interacción de la β -hemolisina con este factor produce “hemólisis sinérgica”, observándose en la placa de agar sangre de cordero una zona hemolítica de punta de flecha en el área de intersección, donde han difundido el factor CAMP y la β -hemolisina. ⁽⁴⁰⁾

3.7.3.3 BBL Streptocard Enzyme Latex Test Kit

El método de determinación de grupo de BD BBL Streptocard Enzyme Latex Test Kit implica la extracción enzimática de antígenos de carbohidratos de grupos específicos. El reactivo de extracción enzimática suministrado con el kit contiene enzimas líticas que permiten extraer los antígenos específicos del grupo de estreptococos mediante la incubación a 37 °C. Los extractos se pueden identificar fácilmente mediante partículas de látex (poliestireno) de color azul sensibilizadas con inmunoglobulinas de conejo específicas del grupo purificadas. Estas partículas de látex de color azul se aglutinan en gran medida en presencia del antígeno homólogo y no se aglutinan en caso de no haber antígeno homólogo.

3.8 *ESCHERICHIA COLI*

3.8.1 *E.coli* e infección vaginal

Se informa que *Escherichia coli* es uno de los organismos más comunes que se encuentran en el tracto genital de mujeres no embarazadas (9-28%) y embarazadas (24–31%). Las cepas de *E.coli* se consideran un reservorio para la colonización vaginal y / o endocervical en mujeres embarazadas, y un paso importante en el desarrollo de infecciones urinarias, intraamnióticas y puerperales a través de la transmisión 'fecal-vaginal-urinaria / neonatal'.⁽⁴³⁾ Histológicamente, la corioamnionitis diagnosticada subclínicamente o clínicamente es una infección obstétrica causada principalmente por microorganismos ascendentes de la vagina que pueden llevar a complicaciones maternas o fetales, como endometritis posparto, bacteriemia o sepsis. *E.coli* se considera que normalmente participa en estas infecciones a pesar de su susceptibilidad polimicrobiana.⁽⁴⁴⁾

3.8.2 ExPEC

Escherichia coli patógena extraintestinal (ExPEC) posee rasgos de virulencia que le permiten invadir, colonizar e inducir enfermedades en sitios corporales fuera del tracto gastrointestinal. Las enfermedades humanas causadas por ExPEC incluyen infecciones del tracto urinario, infecciones vaginales, meningitis neonatal, sepsis, neumonía, infecciones del sitio quirúrgico, así como infecciones en otras ubicaciones extraintestinales.⁽⁴⁵⁾

El estado del sistema inmunitario y la susceptibilidad del huésped desempeñan un papel importante en el resultado de una infección y la progresión de la enfermedad. Sin embargo, la infección extraintestinal está asociada con una amplia gama de factores de virulencia que incluyen adhesinas, toxinas, sideróforos e invasinas, entre otros. Cepas de *E. coli* en infecciones vaginales comparten un perfil de factores de virulencia con cepas patógenas extraintestinales de *E. coli* (ExPEC), que son diferentes de la flora comensal y les permiten colonizar, evitar los mecanismos de defensa y causar infecciones extraintestinales.⁽⁴⁶⁾

La mayoría de los ExPEC se asignan al grupo filogenético virulento B2, seguido del grupo D, mientras que los grupos A y B1 se asocian frecuentemente con cepas comensales basadas en la antigua clasificación creada por Clermont et al.⁽⁴⁷⁾. El análisis filogenético ha demostrado que *Escherichia coli* está compuesta por cuatro grupos filogenéticos principales (A, B1, B2 y D) y que las cepas extraintestinales virulentas pertenecen principalmente a los grupos B2 y D. En realidad, los grupos filogenéticos pueden determinarse por electroforesis de enzimas multilocus o ribotyping, ambos de los cuales son técnicas complejas, que requieren mucho tiempo.

3.9 ENTEROCOCCUS SPP.

3.9.1 Generalidades *Enterococcus spp.*

Enterococcus son bacterias Gram positivo que habitan en el interior del tracto gastrointestinal de una variedad de organismos, incluyendo al hombre. Pueden encontrarse también en el tracto genitourinario y en la saliva. Han sido identificados como patógenos oportunistas para los humanos, pudiendo causar diferentes enfermedades dentro de las que se encuentran las endocarditis, bacteriemias enterocóccicas, infecciones del tracto urinario, neonatales, del sistema nervioso central (aunque son raras) y vaginitis aeróbica.⁽⁴⁸⁾

Antiguamente los enterococos pertenecían, clásicamente, a los *Streptococcus* grupo D de Lancefield. En el año 1970 fueron oficialmente clasificados por Kalina como un género independiente. A partir de esta fecha el género *Enterococcus* es considerado un género separado del género *Streptococcus*. La división de los géneros se basó en estudios taxonómicos y de ácidos nucleicos que demostraron su relación distante con *Streptococcus* y que permitieron considerarlos géneros diferentes.⁽⁴⁹⁾

3.9.2 Características morfológicas

Enterococcus son células esféricas u ovoides, de tamaño $0,6-2,0 \times 0,6-2,5 \mu\text{m}$. Son cocos Gram positivos, no formadores de endosporas. Se presentan en forma de pares o de cadenas cortas. Son no móviles, con excepción de las especies *E. gallinarum* y *E. casseliflavus*. Son anaerobios facultativos, quimiorganotrofos, con metabolismo fermentativo. Fermentan un amplio rango de carbohidratos con producción principalmente de L (+)- ácido láctico, pero no de gas, y producen un pH final de 4,2-4,6. Presentan requerimientos nutricionales

complejos. Son catalasa negativo o, más comúnmente, débilmente positivos. Crecen usualmente en un caldo de cultivo a 10 °C y 45 °C, aunque el crecimiento óptimo es a 37 °C. Pueden crecer a pH 9,6, con 6,5 % de NaCl y con 40 % de bilis. Usualmente fermentan la lactosa. Portan el antígeno D del grupo Lancefield y poseen el carbohidrato C. Sobreviven después del calentamiento a 60 °C durante 30 min.⁽⁵⁰⁾ Las colonias en los medios agarizados, generalmente, se presentan incoloras a grises, que tienen de 2-3 mm de diámetro a los 2 días de incubación. *Enterococcus* pueden presentar hemólisis de tipo α , β o pueden ser no hemolíticos.⁽⁵¹⁾

Enterococcus pueden diseminarse por transmisión fecal-oral, por contacto con fluidos de personas infectadas o por contacto con superficies contaminadas. En los humanos, las especies más frecuentes son *E. faecalis* y *E. faecium* pues causan, entre ambos, aproximadamente el 90 % de los aislamientos clínicos.⁽⁵²⁾

Las mujeres pueden portar *Enterococcus spp* en un número alto en la vagina de manera asintomática, y el 60 % de los hombres en el hospital son portadores de estos microorganismos en el área perineal y en el meato urinario. Estos microorganismos se han convertido en una causa importante de septicemias en los recién nacidos y también provocan, de forma inusual, otitis media.⁽⁵³⁾

En los últimos años se ha desarrollado un interés creciente por el género *Enterococcus*, debido a la mayor incidencia de infecciones hospitalarias graves que provoca, así como a la adquisición de resistencia contra diversos agentes antimicrobianos. En los reportes microbiológicos rutinarios, la mayoría de los aislamientos de *Enterococcus* provienen de muestras de secreción vaginal.

3.9.3 Agar Enterococcosel: Este medio se basa en la fórmula de agar bilis esculina de Rochaix, modificada más tarde por Isenberg et al. Al reducir la concentración de bilis y añadir azida sódica.⁽⁵⁴⁾ Esta modificación se suministra como BD Enterococcosel Agar. El medio es una fórmula estándar para el aislamiento de enterococos.

Dos peptonas proporcionan los nutrientes. Los estreptococos del grupo D (incluidos los enterococos) hidrolizan la esculina para formar esculina y glucosa. La esculina reacciona con una sal férrica para formar un complejo marrón oscuro o negro. Se incluye el citrato férrico como indicador, que reacciona con la esculina para producir un complejo de marrón a negro. Se utiliza bilis de buey para inhibir las bacterias Gram positivas diferentes de los enterococos. La azida sódica inhibe los microorganismos Gram negativos.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general:

Determinar la prevalencia de los agentes etiológicos presentes en el flujo vaginal de mujeres que asisten al centro de salud José Dionisio Astaburuaga de Talca.

4.2 Objetivos específicos:

- Investigar presencia de *Gardnerella vaginalis* en muestras de flujo vaginal de mujeres que asisten al centro de salud José Dionisio Astaburuaga de Talca
- Evaluar la presencia de *Candida albicans* en muestras de flujo vaginal de mujeres que asisten al centro de salud José Dionisio Astaburuaga de Talca.
- Evaluar la presencia de *Streptococcus agalactiae* en muestras de flujo vaginal en una población sana de mujeres embarazadas del centro de salud José Dionisio Astaburuaga de Talca.
- Evaluar la presencia de *Escherichia coli* en muestras de flujo vaginal de mujeres que asisten al centro de salud José Dionisio Astaburuaga de Talca.
- Monitorizar la portación de *Enterococcus spp.* en muestras de flujo vaginal de mujeres que asisten al centro de salud José Dionisio Astaburuaga de Talca.

V. MATERIALES Y METODOS

5.1 POBLACIÓN ESTUDIADA

El universo del estudio comprende 100 mujeres de 18 a 79 años, sexualmente activas, embarazadas y no embarazadas que consultaron consecutivamente en el centro de salud José Dionisio Astaburuaga, en la comuna de Talca, Región del Maule.

5.2 EXAMEN CLÍNICO Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

El examen clínico ginecológico y recolección de muestras de flujo vaginal fue realizado por la matrona del CESFAM quien llenó la ficha donde se anotó el motivo de consulta, la presencia de síntomas, antecedentes clínicos y los resultados del examen genital.

Se obtuvieron tres muestras vaginales recolectadas del fondo del saco lateral y posterior con tres tórculas estériles, bajo especuloscopia, una vez que la paciente aceptó participar en el estudio y firmó el consentimiento informado. La primera tórcula fue colocada en 2 ml de agua destilada estéril para examen al fresco, recuento leucocitario, observación de trofozoítos móviles, tinción de Gram, detección de elementos levaduriformes, células parabasales y clue cells. La segunda muestra fue inoculada en medio de transporte Stuart para efectuar cultivo de bacterias. La última muestra se tomó con tórcula seca para la posterior realización de la prueba de aminas. Las muestras fueron conservadas y transportadas al laboratorio a temperatura ambiente dentro de las 3 h de obtenidas e inmediatamente procesadas.

En caso de que una paciente se encuentre embarazada y en su 36 semana se toma una muestra perianal introduciéndolo suavemente por el ano y frotando las paredes del recto muy suavemente (para pesquisa de *Sagalactiae*). Para la recolección y transporte de las muestras se seleccionó el medio de transporte Stuart ya que este permite recuperar y mantener la viabilidad de los microorganismos presentes en las distintas muestras sin que exista un crecimiento significativo. El cloruro de calcio que compone al medio proporciona iones esenciales para mantener el balance osmótico, el tioglicolato de sodio evita los cambios oxidativos y provee una atmósfera reducida, el glicerofosfato de sodio actúa como buffer y el azul de metileno es el colorante indicador del estado de óxido-reducción.⁽⁵⁵⁾

5.3 CULTIVOS E IDENTIFICACIÓN

5.3.1 Pruebas primarias

5.3.1.1 Olor o prueba de aminas: Las aminas (trimetilamina, putrescina y cadaverina) son producidas por la flora vaginal mezclada y se detectan cuando las secreciones vaginales se mezclan con hidróxido de potasio esto ocurre cuando una torula con secreciones vaginales se sumerge en un tubo de ensayo que contiene hidróxido de potasio (KOH). El olor de amina, que recuerda el olor a pescado, se produce cuando una gota del flujo vaginal se mezcla con una gota de hidróxido de potasio al 10%.⁽³¹⁾

5.3.1.2 Examen directo: con la tórula en agua destilada estéril se realizó un frotis para observación microscópica directa en busca de células levaduriformes, presencia de bacterias, recuento de leucocitos, observación de trofozoítos móviles, detección de elementos levaduriformes, células parabasales y clue cells. Y otro frotis a parte para la realización de la tinción de Gram.

5.3.2 Cultivos

Cada muestra recolectada en el medio de transporte Stuart fue sembrada con un Asa bacteriológica estéril en forma de argolla sobre una placa Agar Sangre Base Soya-Tripticasa, Agar Mac Conkey, Agar Enterococcosel y CHROMagar Candida[®], utilizando la siembra en pentágono. Posteriormente, las placas fueron incubadas a 37°C por 18-24 horas (Se requiere una incubación de 42 horas para que se desarrolle por completo el color de las colonias Candida). Todo este proceso fue realizado con las medidas de bioseguridad pertinentes: guantes desechables, delantal, cabello tomado, contenedor de basura común y de desechos biológicos. Al día siguiente, terminado el tiempo de incubación del microorganismo, se realizó la observación macroscópica de las colonias.

Si se encontraran colonias que presenten un tamaño de pequeño a mediano (1-2mm de diámetro), de color grisáceo y con β -hemólisis acotada a la colonia evidente en el agar, se les realiza la prueba de oxidasa y catalasa. Las colonias que presentaron las características antes mencionadas y dieran como resultado catalasa y oxidasa negativas, propias de *Streptococcus agalactiae*, fueron sometidas a la prueba de CAMP y a la prueba serológica descrita anteriormente.

5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los intervalos de confianza [IC95%]. Valores de $p < 0,05$ fueron considerados significativos.

VI RESULTADOS

En la Tabla 5 se presentan las características de las pacientes. Veintisiete participantes (27%) correspondieron a mujeres embarazadas y setenta y tres (73%) a no embarazadas. La edad promedio de las mujeres gestantes fue 26,4 años (DE: 4,43) y de las no embarazadas 43,6 años (DE: 13,98), diferencia no significativa (P: 0,103).

Tabla 5. Características de las pacientes evaluadas. Centro de Salud Familiar José Dionisio Astaburuaga, en la comuna de Talca, Región del Maule.

Característica	N	%
n Total	100	
Embarazadas	27	27%
No embarazadas	73	73%
Edad (años) Promedio (DE)		
Embarazadas	26,4 años	4,43
No embarazadas	43,6 años	13,98

Se estudió la microbiota vaginal de las 100 mujeres. En 50 (50%) de ellas, la microbiota fue categorizada como normal y en 50 casos (50%) se detectó uno o más agentes etiológicos. No hubo diferencias significativas en la proporción de microbiota normal o infecciones entre gestantes y no gestantes. En la Tabla 6 se observan los resultados microbiológicos totales y agrupados en mujeres embarazadas y en no embarazadas. *E. coli*, seguida por la *Enterococcus spp*, fueron las bacterias más frecuentemente aisladas de las muestras vaginales

en la población general y en las mujeres no embarazadas, mientras que en las mujeres gestantes, la frecuencia de *C. albicans* y *Enterococcus spp* fue mayor.

Se obtuvieron 12 aislados de *Candida* en el total de pacientes. Once de ellos correspondieron a *C. albicans* (91,6%) y uno (8,4%) a *Candida spp*. Se detectaron nueve coinfecciones; ocho correspondieron a la asociación de *E. coli* / *Enterococcus*, y una a la asociación de *Gardnerella vaginalis* / *Candida albicans*. Los agentes menos frecuentes fueron *Gardnerella vaginalis* y *Candida albicans*, con ocho y doce casos respectivamente.

Tabla 6. Frecuencia de microbiota normal e infecciones vaginales en mujeres embarazadas y no embarazadas. Centro de Salud Familiar José Dionisio Astaburuaga, en la comuna de Talca, Región del Maule.

Categorías	n	%	Mujeres embarazadas		Mujeres no embarazadas	
			n	%	n	%
Microbiota normal	50	50	13	48,2	37	50,7
<i>E. coli</i>	14	14	3	11,1	11	15,1
<i>Enterococcus spp.</i>	9	9	4	14,8	5	6,9
<i>C. albicans</i>	10	10	4	14,8	6	8,2
<i>Candida spp.</i>	1	1	0	0	1	1,3
<i>G. vaginalis</i>	7	7	2	7,4	5	6,9
<i>E. coli/ Enterococcus spp</i>	8	8	0	0	8	10,9
<i>G.vaginalis/ C. albicans</i>	1	1	1	3,7	0	0
Total	100	100%	27	100%	73	100%

La Figura 2 muestra la frecuencia de bacterias aisladas en las mujeres embarazadas. Los agentes más aislados fueron *Candida albicans* junto con *Enterococcus spp* con un 28,6%, seguido de *E. coli* con un 21,4%, *Gardnerella vaginalis* con un 14,2% y por último la co-infección de *G. vaginalis/ C.albicans* con un 7,2%.

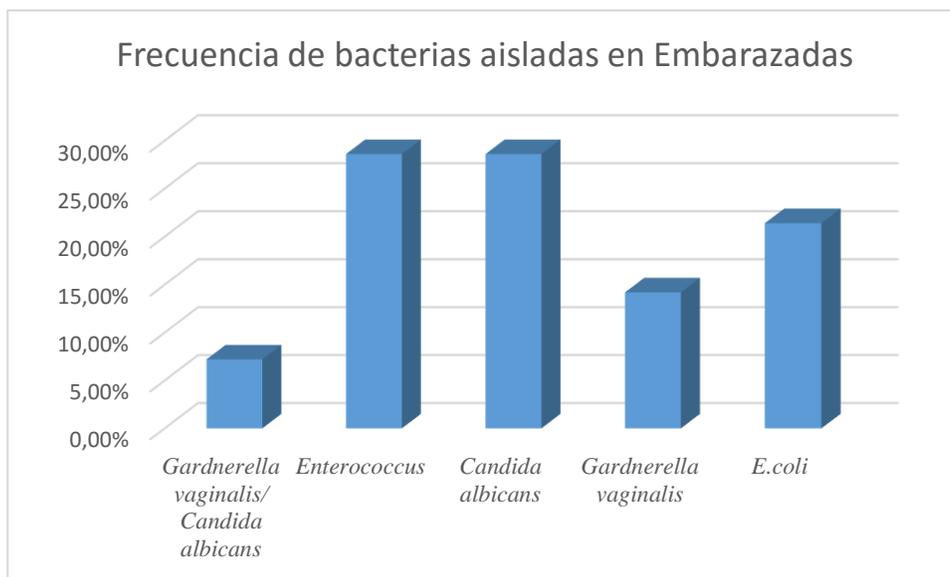


Figura 2. Frecuencia de bacterias aisladas en mujeres embarazadas.

En la Tabla 7 se muestra la frecuencia de aislamiento de agentes etiológicos en relación con la edad, agrupada en seis rangos, de las pacientes. Se observó diferencias significativas entre la frecuencia de microorganismos aislados y el grupo etario ($p: 0,035$). El grupo que con mayor frecuencia presentan agentes etiológicos o que presenta una mayor tasa de microorganismos correspondió al de 33-42 años con un 66,6%, le sigue el grupo etario que comprende las edades de 43 a 49 años con un 55,6%, el grupo de 18-25 con un 55%, el grupo de 58-79 años con un 54,5% , el grupo de 26-32 años con un 40% y por último el grupo que comprende las edades de 50 a 57 años con un 35,7%. La frecuencia de infección en el grupo 33-42 fue significativamente mayor a la encontrada en el grupo 50-57 ($p: 0,02$). En la tabla 8 se muestra la distribución por rangos de edad de microorganismos aislados desde las pacientes del Centro de salud familiar José Dionisio Astaburuaga, en la comuna de Talca, Región del Maule.

Tabla 7. Frecuencia de infecciones vaginales en relación con la edad de las pacientes. Centro de Salud Familiar José Dionisio Astaburuaga, en la comuna de Talca.

Grupo etario (años)	Consultantes	Presentan Agentes etiológicos	
	n	n	Frecuencia (%)
18-25	20	11	55%
26-32	25	10	40%
33-42	12	8	66,6%
43-49	18	10	55,6%
50-57	14	5	35,7%
58-79	11	6	54,5%

Tabla 8. Distribución por rangos de edad de microorganismos aislados

Microorganismos	Rango de edad (años)						
	18-25	26-32	33-42	43-49	50-57	57-79	Total (%)
<i>E. coli</i>	3	2	0	3	3	3	14
<i>G. vaginalis</i>	1	2	1	2	1	0	7
<i>C. albicans</i>	3	1	2	2	1	0	9
<i>Enterococcus spp.</i>	3	2	3	2	0	1	11
Co- infección	1	3	2	1	0	2	9
Total (%)	11 (22)	10 (20)	8 (16)	10 (20)	5 (10)	6 (12)	50 (100%)

VII DISCUSION

Los objetivos de este estudio fueron determinar la prevalencia de los agentes etiológicos presentes en el flujo vaginal de mujeres que asisten al centro de salud José Dionisio Astaburuaga de Talca, para lo cual se incluyeron consecutivamente mujeres con distintos motivos de consulta. Se encontró una alta frecuencia de infecciones vaginales lo que sugiere investigar los factores de riesgo que están determinando esta frecuencia, dado su fuerte conexión con patologías obstétricas, ginecológicas y transmisión de ITS.

Gardnerella vaginalis y *Enterococcus spp* fueron aislados con gran frecuencia, siendo estos uno de los principales agentes de infección vaginal o vaginosis bacteriana (VB). La VB es una alteración compleja de la microbiota vaginal, en la que los lactobacilos van siendo reemplazados secuencialmente por *Gardnerella vaginalis* y un número creciente de bacterias anaerobias, siendo *Prevotella spp*, *Peptostreptococcus spp* y *Mobiluncus spp* las especies más frecuentemente cultivadas. La infección produce generalmente supresión de la respuesta inflamatoria local y las portadoras de ella tienen mayor riesgo de desarrollar enfermedad inflamatoria pélvica, PP, endometritis puerperal y de adquirir ITS.⁽⁵⁶⁾ Su frecuencia varía ampliamente según la población estudiada, lo que se refleja también en estudios efectuados con anterioridad: adolescentes 31%,⁽⁵⁷⁾ planificación familiar 32%⁽²⁶⁾ y 61% en trabajadoras sexuales.⁽⁵⁸⁾

La patogenia de la VB no es bien conocida, pero se han identificado numerosos factores de riesgo. La VB ha sido asociada con contacto con una nueva o múltiples parejas heterosexuales o del mismo género y menor uso de preservativos.⁽⁵⁹⁾ La prevalencia de VB también se asocia significativamente con estrés psicosocial crónico en mujeres embarazadas y no embarazadas,⁽⁶⁰⁾ tabaquismo y hábitos de higiene como el uso de duchas vaginales. El

diagnóstico de VB puede efectuarse clínicamente o mediante el test de Nugent y cols., Este último es el más empleado actualmente.

C. albicans fue uno de los microorganismos aislados con mayor frecuencia en el estudio. La vulvovaginitis candidiásica (CVV) es una causa frecuente de infección vaginal en el mundo.⁽⁶¹⁾ Al comparar nuestro estándar microbiológico con los signos y síntomas, encontramos a dos pacientes con cultivo de *Candida* positivo y signos y síntomas de infección vaginal y microscopia negativa, indicando resultados falsos negativos del examen microscópico. Considerando la menor sensibilidad del examen microscópico, el mejor estándar para el diagnóstico de CVV debería considerar la presencia de elementos levaduriformes al examen microscópico y/o cultivo positivo, en una paciente con clínica de infección vaginal.

Se encontró una baja prevalencia de vaginitis aeróbica (VA). La VA es una infección vaginal cuya descripción clínica y microbiológica es relativamente reciente y por ello su prevalencia es aún poco conocida.⁽²⁶⁾ Es un proceso infeccioso similar a la VB en el sentido de que también se caracteriza por la pérdida del predominio lactobacilar, pero, a diferencia de VB, en su etiología participan bacterias anaerobias facultativas, como *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. Estas bacterias colonizan la mucosa vaginal en forma persistente causando una intensa respuesta inflamatoria vaginal y niveles de citoquinas pro-inflamatorias en el contenido vaginal significativamente superiores a los encontrados en mujeres con VB.⁽⁵⁶⁾ Existen evidencias que la VA se asocia con un riesgo mayor de PP que VB.

El diagnóstico de VB se efectúa microscópicamente, atendiendo a un sistema de puntajes que considera la proporción de lactobacilos con respecto de otros morfotipos bacterianos, la cantidad de leucocitos, proporción de leucocitos de aspecto tóxico y proporción de células epiteliales parabasales. De acuerdo a este protocolo, el diagnóstico de VA es leve, moderado

o severo. La secreción vaginal en VA se caracteriza por ser espesa, de color amarillento y de mal olor. ⁽⁶²⁾ Los signos y síntomas de VA no son específicos y es difícil diagnosticarla sin la ayuda del laboratorio.

Cerca del 18% de las pacientes presentaron co-infecciones, es decir, dos microorganismos que producen infecciones vaginales, la mayoría era la co-relación de *E. coli* /*Enterococcus spp*, principales causantes de vaginitis aeróbica. La distinción entre una co-infección y una infección mixta tiene implicancias terapéuticas, pero la mayoría de los estudios no diferencia entre ambas, ya que no existe un estándar microbiológico para su definición. Una co-infección correspondería a la concurrencia de dos infecciones vaginales, sin que se establezca la contribución de cada uno a la alteración de la homeostasis vaginal. ⁽⁶³⁾ Una infección mixta, también denominada vaginitis mixta, corresponde a la concurrencia de dos procesos infecciosos, ambos contribuyendo a la alteración de la homeostasis vaginal y a la producción de signos y síntomas. ⁽⁶³⁾ No es posible del punto de vista microbiológico distinguir entre co-infección y una vaginitis mixta por CVV y VB, o VA ya que el método de Nugent no emplea parámetros clínicos y los síntomas y signos no contribuyeron a distinguirlas. La frecuencia de mujeres con CVV y VB definida por microscopia, varía de 3 a 27% dependiendo de la población estudiada. ⁽⁶³⁾

El 18% de las pacientes presentó microbiota intermedia, es decir, *Enterococcus spp*. ya que este microorganismo puede tanto ser comensal y no provocar daño alguno como también si las condiciones del ambiente vaginal favorecen su crecimiento puede actuar como patógeno oportunista. El significado clínico de esta categoría de microbiota sigue siendo motivo de controversia entre aquellos que sugieren que es una entidad clínica específica, o aquellos que indican que es parte de un continuum entre microbiota normal y VB. No obstante, ha sido descrita como factor de riesgo de aborto. No existen criterios clínicos para su diagnóstico y el diagnóstico se establece mediante criterios microscópicos para los cuales no existe consenso.

El estudio incluyó, por azar, un número similar de mujeres gestantes y no gestantes y no se observaron diferencias significativas en la edad ni en la frecuencia de infección vaginal entre ambos grupos. No obstante, al separar la población estudiada en tres grupos etarios y determinar la frecuencia de infección vaginal, se observaron diferencias significativas, siendo el grupo etario correspondiente a las edades entre 33-42 años el que presentaba una mayor frecuencia de aislamiento de microorganismos, potenciales agentes de infección vaginal. Esto podría indicar el motivo de su consulta. El 50% de las mujeres del grupo de mayor edad consultó por síntomas de infección, mientras que sólo el 30% de las mujeres de 33-42 años consultaron por esta razón.

No se encontró una buena correlación entre síntomas y diagnóstico microbiológico de infección vaginal, lo que ha sido también demostrado en otros estudios.⁽⁶⁴⁾ En casi 50% de las mujeres que declararon síntomas no se encontró una etiología infecciosa. Existen causas no infecciosas de vaginitis, como las alergias de contacto a látex, lubricantes, compresas y las irritaciones producidas por el uso de jabones u otros productos de higiene inadecuados, que podrían explicar parte de la sintomatología, pero no disponemos de esta información. La capacidad de la mujer de discriminar entre lo que es fisiológico y lo anormal también pudo contribuir a la discordancia. Finalmente, el pequeño tamaño de la muestra y la acotada declaración de los síntomas contribuyeron a estos resultados. Sería importante desarrollar un panel de preguntas con un mayor poder de discriminación y que pueda ayudar también a las mujeres en su reconocimiento y descripción, como asimismo indagar en las prácticas de higiene y otros hábitos de las pacientes.

Los signos clínicos tuvieron una mayor capacidad de discriminación que los síntomas y buena concordancia con el diagnóstico de laboratorio, pero la concordancia con infecciones vaginales específicas fue débil a moderada. El diagnóstico microbiológico no incluyó todas las causas de infección vaginal como la lactobacilosis citolítica y las infecciones virales. Whatne y cols., demostraron la presencia de virus herpes simple en 7% de mujeres con leucorrea.⁽⁶⁵⁾ Los autores también demostraron la contribución de las infecciones cervicales

a la presencia de leucorrea e inflamación.⁽⁶⁵⁾ Los factores genéticos son determinantes en la respuesta inmune a antígenos microbianos y, ante una exposición, algunas personas pueden montar una reacción inflamatoria, mientras que en otras no se produce tal respuesta. Asimismo, la respuesta inmunológica de un hospedero también varía según su estado de inmunocompetencia y del estrés psicosocial.⁽⁶⁶⁾

El enfoque de *E. coli* como agente causal de infección vaginal ha sido controversial. En muchos casos su aislamiento desde esos cuadros clínicos no es tomado en cuenta ya que usualmente se le considera un contaminante ocasional de vagina, sin asignársele ningún rol en la patogenia de estas infecciones. *E. coli* es una bacteria fuertemente adaptada al ser humano, con el cual puede vivir en perfecta simbiosis o generarle severas enfermedades. Esta bacteria, habitante normal del intestino humano y de animales de sangre caliente, durante su evolución ha adquirido determinantes genéticos, cuya expresión fenotípica la transforman en patógeno para el ser humano y animales.⁽⁶⁷⁾ La plasticidad genómica de esta bacteria, permite distinguir varios patotipos especializados en reconocer diferentes epitelios del hombre y que expresan numerosos factores de virulencia responsables de la infección. Esta capacidad genética obliga a pensar en una constante evolutiva de este microorganismo, que le otorga propiedades para reconocer y colonizar nuevos nichos ecológicos en mucosa y epitelios del ser humano.⁽⁶⁸⁾

En el presente estudio llamó la atención que en los 14 aislados monomicrobianos de *E. coli* evidencian un masivo número de colonias, en comparación a su presencia asociada a otro microorganismos, donde su desarrollo fue significativamente menor, además cabe mencionar que un gran número de muestras que presentaban *E. coli* la presentaban inactiva ya que en el Agar Mac Conkey esta no era capaz de utilizar la lactosa por lo que en el medio de cultivo se observaba con Lac (-) lo que pudiese llevar a errores de interpretación y con ello a un error diagnóstico. En este contexto, el aislamiento individual de esta bacteria y descartándose la presencia de otros reconocidos agentes etiológicos, permitiría argüir algún grado de responsabilidad en la infección vaginal, debiendo considerarse desde esta

perspectiva la implementación de un tratamiento antimicrobiano. En relación a esto último, es importante considerar que algunos de los problemas ocasionados por infecciones vaginales que afectan a la mujer embarazada y que pueden dañar al feto o al recién nacido, sean provocados por cepas de *E. coli* en conjunto con los agentes etiológicos ya conocidos. Un interesante estudio determinó que mujeres embarazadas portadoras asintomáticas de *E. coli* en vagina, pueden transferírsela al feto o al recién nacido e inducirle meningitis. ⁽⁶⁹⁾

Hasta el momento no existían antecedentes con base científica que mostraran la participación de cepas de *E. coli* en la infección vaginal. Si bien los resultados obtenidos ofrecen solamente algún grado de sospecha en la participación de *E. coli*, se hace necesario investigar las reales propiedades virulentas y de adaptación ecológica que podrían presentar estas bacterias en el hábitat vaginal.

Finalmente, la sensibilidad del diagnóstico microbiológico depende de los estándares de diagnóstico y, como se comentara anteriormente, se detectaron algunos resultados falsamente negativos de CVV. Por todo lo señalado, no es posible comparar la exactitud entre el diagnóstico microbiológico y el diagnóstico clínico, solamente su concordancia.

La colonización por coli puede ser un factor de riesgo para complicaciones durante el embarazo, especialmente si estas cepas son resistentes a ciertos medicamentos y muestran muchos factores de virulencia que resultan en fracaso del tratamiento o infecciones. Por lo tanto, es importante saber la resistencia y virulencia asociada a las cepas de *E. Coli* de los diferentes sitios anatómicos para determinar la probabilidad y la gravedad de la infección que estas cepas pueden causar. La caracterización de *E. coli* presente en los aislamientos que colonizan la vagina y causan infecciones obstétricas pueden ayudar especialmente a desarrollar intervenciones y evitar el vínculo causal entre el transporte materno y las infecciones obstétricas y del neonato posteriores.

VIII CONCLUSIÓN

Al comprender la importancia del microbiota vaginal y cómo los cambios en su composición y funcionamiento pueden afectar a la salud de las mujeres, los enfoques terapéuticos en la actualidad están encaminados a restaurar la microbiota vaginal normal y disminuir la posibilidad de la reinfección de las parejas sexuales que también pueden impactar en la capacidad para determinar la eficacia de los enfoques terapéuticos actuales que permitan lograr altas y sostenidas tasas de curación a largo plazo.

La Vaginosis bacteriana es la causa más común de infección vaginal en mujeres en edad reproductiva, por lo que es necesario realizar un diagnóstico rápido y eficaz para evitar las múltiples complicaciones gineco-obstétricas de esta enfermedad. La mayoría de los trabajos consultados solo aplican los parámetros de Amsel como criterio para diagnosticar la presencia de la VB, basado en la presencia de, al menos, 3 de los 4 criterios clínicos establecidos, criterios insuficientes para un adecuado diagnóstico clínico de esta patología.

En un intento por evitar la reinfección, se debería implementar de rutina el uso consistente del condón, y una adecuada higiene genital.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Martín R, Soberón N, Vázquez F, Suárez JE. [Vaginal microbiota: composition, protective role, associated pathologies, and therapeutic perspectives]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008;26(3):160-7.
2. Marcelo Pradenas A. Infecciones cérvico vaginales y embarazo. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2014;25(6):925-35.
3. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Ladhoff A, Swidsinski S, Hale LP, et al. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol*. 2005;106(5 Pt 1):1013-23.
4. SÁNCHEZ HERNÁNDEZ JA, COYOTECATL GARCÍA LL, VALENTÍN GONZÁLEZ E, VERA GORDILLO L, RIVERA TAPIA JA. Diagnóstico clínico, de laboratorio y tratamiento de la vaginosis por *Gardnerella vaginalis*. 2007.
5. Rivers CA, Adaramola OO, Schwebke JR. Prevalence of bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis mixed infection in a southeastern american STD clinic. *Sex Transm Dis*. 2011;38(7):672-4.
6. Eschenbach DA, Hillier S, Critchlow C, Stevens C, DeRouen T, Holmes KK. Diagnosis and clinical manifestations of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1988;158(4):819-28.
7. Parent D, Bossens M, Bayot D, Kirkpatrick C, Graf F, Wilkinson FE, et al. Therapy of bacterial vaginosis using exogenously-applied *Lactobacilli acidophili* and a low dose of estriol: a placebo-controlled multicentric clinical trial. *Arzneimittelforschung*. 1996;46(1):68-73.
8. Balkus JE, Srinivasan S, Anzala O, Kimani J, Andac C, Schwebke J, et al. Impact of Periodic Presumptive Treatment for Bacterial Vaginosis on the Vaginal Microbiome among Women Participating in the Preventing Vaginal Infections Trial. *J Infect Dis*. 2017;215(5):723-31.
9. Amabebe E, Anumba DOC. The Vaginal Microenvironment: The Physiologic Role of. *Front Med (Lausanne)*. 2018;5:181.
10. Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome*. 2015;3:31.
11. Smith SB, Ravel J. The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. *J Physiol*. 2017;595(2):451-63.
12. Weinstein L, Bogin M, Howard JH, Finkelstone BB. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 1936;32(2):211-8.
13. Miller EA, Beasley DE, Dunn RR, Archie EA. Lactobacilli Dominance and Vaginal pH: Why Is the Human Vaginal Microbiome Unique? *Front Microbiol*. 2016;7:1936.
14. MacIntyre DA, Chandiramani M, Lee YS, Kindinger L, Smith A, Angelopoulos N, et al. The vaginal microbiome during pregnancy and the postpartum period in a European population. *Sci Rep*. 2015;5:8988.
15. Petrova MI, Reid G, Vaneechoutte M, Lebeer S. *Lactobacillus iners*: Friend or Foe? *Trends Microbiol*. 2017;25(3):182-91.
16. Aldunate M, Srbinovski D, Hearps AC, Latham CF, Ramsland PA, Gugasyan R, et al. Antimicrobial and immune modulatory effects of lactic acid and short chain fatty acids

produced by vaginal microbiota associated with eubiosis and bacterial vaginosis. *Front Physiol.* 2015;6:164.

17. Gupta S, Kumar N, Singhal N, Kaur R, Manektala U. Vaginal microflora in postmenopausal women on hormone replacement therapy. *Indian J Pathol Microbiol.* 2006;49(3):457-61.

18. Srinivasan S, Liu C, Mitchell CM, Fiedler TL, Thomas KK, Agnew KJ, et al. Temporal variability of human vaginal bacteria and relationship with bacterial vaginosis. *PLoS One.* 2010;5(4):e10197.

19. Nasioudis D, Beghini J, Bongiovanni AM, Giraldo PC, Linhares IM, Witkin SS. α -Amylase in Vaginal Fluid: Association With Conditions Favorable to Dominance of *Lactobacillus*. *Reprod Sci.* 2015;22(11):1393-8.

20. Padgett DA, Glaser R. How stress influences the immune response. *Trends Immunol.* 2003;24(8):444-8.

21. Witkin SS, Linhares IM. Why do lactobacilli dominate the human vaginal microbiota? *BJOG.* 2017;124(4):606-11.

22. Valore EV, Park CH, Igrati SL, Ganz T. Antimicrobial components of vaginal fluid. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187(3):561-8.

23. Strus M, Brzywczy-Włoch M, Gosiewski T, Kochan P, Heczko PB. The in vitro effect of hydrogen peroxide on vaginal microbial communities. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2006;48(1):56-63.

24. Taylor BD, Darville T, Haggerty CL. Does bacterial vaginosis cause pelvic inflammatory disease? *Sex Transm Dis.* 2013;40(2):117-22.

25. Taha TE, Kumwenda NI, Kafulafula G, Makanani B, Nkhoma C, Chen S, et al. Intermittent intravaginal antibiotic treatment of bacterial vaginosis in HIV-uninfected and -infected women: a randomized clinical trial. *PLoS Clin Trials.* 2007;2(2):e10.

26. Donders GG, Vereecken A, Bosmans E, Dekeersmaecker A, Salembier G, Spitz B. Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis. *BJOG.* 2002;109(1):34-43.

27. Hyman RW, Fukushima M, Diamond L, Kumm J, Giudice LC, Davis RW. Microbes on the human vaginal epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(22):7952-7.

28. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med.* 1983;74(1):14-22.

29. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991;29(2):297-301.

30. Spiegel CA, Davick P, Totten PA, Chen KC, Eschenbach DA, Amsel R, et al. *Gardnerella vaginalis* and anaerobic bacteria in the etiology of bacterial (nonspecific) vaginosis. *Scand J Infect Dis Suppl.* 1983;40:41-6.

31. Mendoza-González A, Sánchez-Vega JT, Sánchez-Peón I, Ruiz-Sánchez D, Tay-Zavala J. [Frequency of *Gardnerella vaginalis* vaginosis and its association with other pathogens causing genital infections in the female]. *Ginecol Obstet Mex.* 2001;69:272-6.

32. Cook RL, Reid G, Pond DG, Schmitt CA, Sobel JD. Clue cells in bacterial vaginosis: immunofluorescent identification of the adherent gram-negative bacteria as *Gardnerella vaginalis*. *J Infect Dis.* 1989;160(3):490-6.

33. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2013;4(2):119-28.
34. Eraso E, Moragues MD, Villar-Vidal M, Sahand IH, González-Gómez N, Pontón J, et al. Evaluation of the new chromogenic medium *Candida* ID 2 for isolation and identification of *Candida albicans* and other medically important *Candida* species. *J Clin Microbiol*. 2006;44(9):3340-5.
35. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J Clin Microbiol*. 1994;32(8):1923-9.
36. Pfaller MA, Houston A, Coffmann S. Application of CHROMagar *Candida* for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, and *Candida (Torulopsis) glabrata*. *J Clin Microbiol*. 1996;34(1):58-61.
37. Luis JG. Infecciones congénitas de baja frecuencia en los neonatos. Algunos aspectos relevantes 2011:[7-20 pp.]. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462011000100002&lng=es.
38. Alarcón P. Diagnóstico microbiológico del género *Streptococcus*. Laboratorio de Referencias Cocáceas Gran Positivas. Chile: Instituto de Salud Pública.; 2011.
39. Rojo P, Araya P, Martínez T, Angélica M, Hormazábal JC, Maldonado A, et al. Caracterización molecular en aislados chilenos de *Streptococcus agalactiae*.: *Revista médica de Chile*; 2008.
40. Koneman EW, Allen S. Diagnóstico Microbiológico/Microbiological diagnosis: Texto Y Atlas En Color/Text and Color Atlas. 6ta ed: Ed. Médica Panamericana; 2008. p. 685.
41. Camponovo C. R. Problemas de resistencia en *Streptococcus pyogenes*. 2002:[107-10 pp.]. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182002019200008&lng=en&tlng=es. 10.4067/S0716-10182002019200008.
42. Zorn BG. CARACTERIZACIÓN GENÉTICA Y PAPEL EN LA PATOGÉNESIS DE SmcL, UNA ESFINGOMIELINASA C DE *Listeria ivanovii*. Universidad Complutense de Madrid.; 2001.
43. Watt S, Lanotte P, Mereghetti L, Moulin-Schouleur M, Picard B, Quentin R. *Escherichia coli* strains from pregnant women and neonates: intraspecies genetic distribution and prevalence of virulence factors. *J Clin Microbiol*. 2003;41(5):1929-35.
44. Edwards RK. Chorioamnionitis and labor. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2005;32(2):287-96, x.
45. Smith JL, Fratamico PM, Gunther NW. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Foodborne Pathog Dis*. 2007;4(2):134-63.
46. Russo TA, Johnson JR. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *J Infect Dis*. 2000;181(5):1753-4.
47. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66(10):4555-8.
48. Chile PNSdIMMdsGd. Guía Perinatal 2015. 2015.
49. Klein G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int J Food Microbiol*. 2003;88(2-3):123-31.
50. Facklam RR, Collins MD. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *J Clin Microbiol*. 1989;27(4):731-4.

51. Donskey CJ, Huyen CK, Das SM, Helfand MS, Hecker MT. Recurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus* stool colonization during antibiotic therapy. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2002;23(8):436-40.
52. Köhler W. The present state of species within the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Int J Med Microbiol.* 2007;297(3):133-50.
53. Dupont H, Vael C, Muller-Serieys C, Chosidow D, Mantz J, Marmuse JP, et al. Prospective evaluation of virulence factors of enterococci isolated from patients with peritonitis: impact on outcome. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;60(3):247-53.
54. Isenberg HD, Goldberg D, Sampson J. Laboratory studies with a selective *Enterococcus* medium. *Appl Microbiol.* 1970;20(3):433-6.
55. Nastro Marcela, Despouy Ana, Perazzi Beatriz, de Mier Carmen, de Torres Ramón, Carlos V. Utilidad de la conservación en medio de Stuart en la determinación del balance del contenido vaginaljun 2008.
56. Donders GG, Van Calsteren K, Bellen G, Reybrouck R, Van den Bosch T, Riphagen I, et al. Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy. *BJOG.* 2009;116(10):1315-24.
57. Angélica MTM, Alberto BP, Ruth M, Pamela O, Jorge. S. VULVOVAGINITIS EN LA ADOLESCENCIA: ESTUDIO ETIOLOGICO. *Rev. chil. obstet. ginecol.;* 2003.
58. G V, G B, E C. Prevalencia de vaginosis bacteriana

en trabajadoras sexuales chilenas. *Rev Panam Salud Publica;* 2011.

59. Fethers KA, Fairley CK, Hocking JS, Gurrin LC, Bradshaw CS. Sexual risk factors and bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2008;47(11):1426-35.
60. Nansel TR, Riggs MA, Yu KF, Andrews WW, Schwebke JR, Klebanoff MA. The association of psychosocial stress and bacterial vaginosis in a longitudinal cohort. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;194(2):381-6.
61. Donati L, Di Vico A, Nucci M, Quagliozzi L, Spagnuolo T, Labianca A, et al. Vaginal microbial flora and outcome of pregnancy. *Arch Gynecol Obstet.* 2010;281(4):589-600.
62. Donders G, Bellen G, Rezeberga D. Aerobic vaginitis in pregnancy. *BJOG.* 2011;118(10):1163-70.
63. Sobel JD, Subramanian C, Foxman B, Fairfax M, Gyax SE. Mixed vaginitis-more than coinfection and with therapeutic implications. *Curr Infect Dis Rep.* 2013;15(2):104-8.
64. Schwartz A, Taras D, Rusch K, Rusch V. Throwing the dice for the diagnosis of vaginal complaints? *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2006;5:4.
65. Wathne B, Holst E, Hovelius B, Mårdh PA. Vaginal discharge--comparison of clinical, laboratory and microbiological findings. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1994;73(10):802-8.
66. Osborne NG, Grubin L, Pratson L. Vaginitis in sexually active women: relationship to nine sexually transmitted organisms. *Am J Obstet Gynecol.* 1982;142(8):962-7.
67. Jores J, Rumer L, Wieler LH. Impact of the locus of enterocyte effacement pathogenicity island on the evolution of pathogenic *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol.* 2004;294(2-3):103-13.
68. Nielsen DW, Klimavicz JS, Cavender T, Wannemuehler Y, Barbieri NL, Nolan LK, et al. The Impact of Media, Phylogenetic Classification, and. *Front Microbiol.* 2018;9:902.
69. McGregor JA, French JI. Bacterial vaginosis in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv.* 2000;55(5 Suppl 1):S1-19.

