



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

FRECUENCIA DE ENTEROBACTERIAS, ESTAFILOCOCOS COAGULASA  
POSITIVA Y/O *Candida albicans* EN MUESTRAS  
PATOLOGICAS DE VAGINA Y CERVIX

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A:

GABRIELA POZOS LOZA

México D.F.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

1994



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO SEGUN EL TEMA

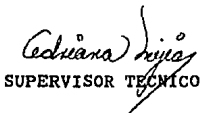
PRESIDENTE: PROF. MARIA DEL CARMEN CORTES DEQUIR  
VOCAL: PROF. RAUL GARZA VELASCO  
SECRETARIO: PROF. ABEL GUTIERREZ RAMOS  
1er. SUPLENTE: PROF. MAITE ASTIGARRAGA ZAVALTA  
2do. SUPLENTE: PROF. MISAEEL GONZALEZ ESPINOSA

LUGAR DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

LABORATORIO DE BACTERIOLOGIA DEL DEPARTAMENTO  
DE BIOLOGIA. FACULTAD DE QUIMICA, U.N.A.M.

  
ASESOR DEL TEMA:

Q.F.B. RAUL GARZA VELASCO

  
SUPERVISOR TECNICO

Q.F.B. ADRIANA GUADALUPE MEJIA CHAVEZ

  
SUSTENTANTE:

GABRIELA POZOS LOZA



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

## I N D I C E

INTRODUCCION .....	1
OBJETIVO .....	2
<b>I. GENERALIDADES SOBRE LOS ESTAFILOCOCOS</b>	
i. Clasificación .....	3
ii. Características microscópicas .....	3
iii. Resistencia a los agentes físicos, químicos y biológicos .....	4
iv. Propiedades culturales .....	5
v. Pruebas de identificación .....	7
<b>II. GENERALIDADES ACERCA DE LAS ENTEROBACTERIAS</b>	
i. Especies principales .....	22
ii. Características comunes .....	22
iii. Algunas características particulares .....	23
iv. Identificación bioquímica .....	29
<b>III. LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS DEL TRACTO GENITAL FEMENINO .....</b>	<b>36</b>
<b>IV. PARTE EXPERIMENTAL</b>	
i. Equipo, material, reactivos y medios de cultivo .....	56
ii. Metodología .....	57
iii. Resultados .....	60
iv. Discusión .....	61
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>65</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>66</b>

## INTRODUCCION

El diagnóstico de las enfermedades cervico-vaginales representa todo un desafío para el laboratorio, puesto que un considerable número de casos no son resueltos con la seguridad que se deseara.

Cuando se detecta a microorganismos tales como *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae* o *Gardnerella vaginalis*, de los cuales se conoce su transmisión a partir de prácticas sexuales, el químico-clínico no duda de su muy probable participación en el cuadro patológico que presenta la paciente; sin embargo, en los casos donde sólo se aislan enterobacterias, estafilococos coagulasa positiva o *Candida albicans*, es difícil determinar si éstos son los agentes etiológicos, o la afección se debe a agentes virales, a bacterias que no desarrollan en los medios comunes de laboratorio, tales como *Chlamydia trachomatis* y *Treponema pallidum*, o inclusive, a disfunciones diversas del tracto genital.

El presente trabajo intenta establecer la frecuencia de enterobacterias, *S. aureus* y *C. albicans* en las muestras cervico-vaginales que, en apariencia, no presentan agentes causales incuestionables de patologías genitales.

De esa manera, se podrá discutir sobre la relativa regularidad con la que el equipo enfrenta esta problemática, en la que el laboratorio suele reportar a dichos microorganismos como probables agentes causales y el médico instituye el tratamiento correspondiente, o bien, descalifica tal posibilidad, procediendo a establecer la terapéutica en conceptos teóricos poco exitosos para las pacientes involucradas.

#### OBJETIVO:

Establecer la frecuencia de *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y las principales especies de enterobacterias, en muestras cervico-vaginales provenientes de pacientes que presentan patologías en el tracto genital inferior.

## I. GENERALIDADES SOBRE LOS ESTAFILOCOCOS

### i. Clasificación

Los estafilococos pertenecen a la familia *Micrococcaceae*, constituida también por los géneros *Micrococcus* y *Planococcus* (41).

Dentro del género *Staphylococcus* se localizan actualmente 27 especies, si bien las siguientes 6 son las que poseen un mayor significado en el campo de la salud pública: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. lugdunensis* y *S. schleiferi*. Cabe mencionar que la primera es la única coagulasa positiva, en tanto que las 5 restantes integran, junto con las 21 que no se mencionan, el grupo de los estafilococos coagulasa negativa o ECN (7, 15, 26, 35).

### ii. Características microscópicas

Los estafilococos son bacterias esféricas cuyo diámetro fluctúa entre 0.8 y 1.0 micras (alrededor de un décimo de diámetro del eritrocito humano); no poseen flagelos ni esporas y sólo algunas cepas son capsuladas; además, se tiñen fácilmente reteniendo el colorante de Gram de manera tenaz, aunque esta propiedad varía en los cultivos viejos y los que se obtienen bajo condiciones adversas (como en presencia de antibióticos, etc.) (1, 4, 9, 20, 41).

Su agrupación característica en acúmulos parecidos a racimos de uvas es la más evidente, aunque sólo se observa en las preparaciones provenientes de muestras biológicas y de cultivos sólidos; su pared celular consta de una capa externa rica en proteínas y de una capa interna de mucopéptido y, aunque su estructura antigénica ya se ha definido, los diversos antígenos tienen poco valor en su identificación, exceptuando a la proteína A de los estafilococos coagulasa positiva (ECP), la cual se utiliza para diferenciar a este grupo mediante la reacción pseudoimmune (36).

### iii. Resistencia a agentes físicos, químicos y biológicos

Los estafilococos figuran entre las bacterias no esporuladas más resistentes, ya que pueden sobrevivir a muchas condiciones ambientales desfavorables durante su camino de un hospedador a otro; son muy resistentes a la luz, temperaturas externas extremas y desecación, por lo cual estos microorganismos se pueden transmitir aún por medio del polvo. Además, sobreviven días a semanas en el pus desecado y en el esputo, y pueden resistir calor húmedo hasta de 60°C durante 30 minutos (1, 4).

Adicionalmente, los estafilococos resisten la acción de los fenoles y la de muchos otros desinfectantes empleados en los laboratorios (cloruro de magnesio, cloruro de benzalconio, etc.). La incorporación de 7 a 8 % de cloruro sódico a los medios de cultivo permite su desarrollo, a la vez que inhibe



el de casi todas las demás bacterias. De hecho, el diseño de medios selectivos para su aislamiento se basa en esta propiedad y/o en su capacidad para soportar la oxidación por teluritos (1, 4, 20, 41).

Finalmente, su resistencia a la penicilina suele depender de su capacidad para producir  $\beta$  lactamasas, propiedad transmitida por conjugación o transducción y que implica la presencia de plásmidos de resistencia, de los cuales cada vez se genera mayor información (4, 14).

#### iv. Propiedades culturales

##### a) Medios de cultivo

Aunque estos microorganismos se reproducen fácilmente en el laboratorio previa siembra en caldo o agar nutritivos, los medios de cultivo que carecen de tiamina y ácido nicotínico no favorecen su desarrollo; sin embargo, en los medios corrientes suelen existir cantidades pequeñas de estas vitaminas. Su crecimiento en sangre es más abundante y hace posible poner de manifiesto hemolisinas estafilocócicas de acción enérgica, tales como la  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  o  $\delta$ , presentes con cierta regularidad en los ECP (4, 9, 26).

Independientemente de que en el laboratorio se emplea gelosa sangre para lograr el aislamiento de estos microorganismos, se

suelen incorporar al análisis otros medios de naturaleza selectiva, tales como el S110 y el manitol sal agar -que deben su selectividad a su alto contenido en NaCl-, así como el Baird Parker y el Vogel Jhonson -cuyo agente inhibidor es el  $K_2TeO_6$  al 1 %- (1, 2, 4, 8, 20).

#### b) Condiciones de incubación

Estos microorganismos desarrollan dentro de límites muy amplios de temperatura (10 a 40°C), aunque su crecimiento óptimo se obtiene entre los 30 y 37°C. Es importante precisar que, su pigmentación característica -la cual sólo es manifiesta en ciertas especies-, se produce mejor entre los 19 y 25°C (2, 4, 41).

En 18 a 24 h y a una presión atmosférica normal de aerobiosis se logra un desarrollo abundante, pero la mayoría de las cepas se reproducen aceptablemente en ausencia de oxígeno; por tal razón, los estafilococos se clasifican como facultativos (41).

#### c) Morfología macroscópica

En general, las colonias estafilocócicas guardan semejanza con manchas redondas de pintura y, de acuerdo a la composición de los medios, su diámetro fluctúa entre los 2 y 4 mm; además, son convexas, de bordes regulares y de consistencia butirácea, y su coloración varía desde el blanco (en gelosa sangre) hasta

el negro -en las formulaciones que contienen teluritos, tales como el Baird Parker y el Vogel Jhonson- (2, 8, 20, 41).

NOTA: Lo referido anteriormente se cumple para todas las especies de *Staphylococcus*. A continuación se mencionan algunas características macroscópicas que sólo sugieren la presencia de *S. aureus* (4, 20):

- En gelosa sangre (G.S) y Baird Parker, las colonias suelen rodearse por halos transparentes, debido a la elaboración de hemolisinas -en G.S.- y de lecitinasa -en el segundo medio-.
- En manitol sal agar (MSA), las colonias se rodean por halos amarillos, debido a que ocurre fermentación del manitol, y su indicador rojo de fenol adquiere aquella coloración al disminuir el pH.
- En S110, tras otras 24 h de incubación, estas últimas a temperatura ambiente, las colonias manifiestan un color amarillo dorado, al producirse un pigmento lipofílico -no hidrosoluble-, constituido por derivados de la xantina.

## v. Pruebas de identificación

### a) Detección del género

Una vez efectuado el aislamiento de colonias sospechosas de estafilococos, es necesario contar con la seguridad de que se trata de este género, lo cual por lo regular se logra mediante

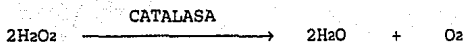
la observación de extensiones teñidas al Gram. Sin embargo, en caso de persistir algunas dudas, puede recurrirse a la realización de la prueba de la catalasa, para diferenciar a estos microorganismos -que la dan positiva-, en relación con los estreptococos -cuyo resultado es negativo- (8, 24, 30).

A continuación se describen los principales aspectos asociados a la prueba de la catalasa.

#### Prueba de la catalasa (24, 30)

La catalasa es una enzima que descompone al peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en oxígeno y agua. Químicamente es una hemoproteína bastante similar a la hemoglobina, con la diferencia de que los cuatro átomos de hierro contenidos en su molécula, se encuentran en su estado más oxidado ( $Fe^{+++}$ ), mientras que en la hemoglobina lo están en estado reducido ( $Fe^{++}$ ). Exceptuando a los estreptococos y a *Gardnerella vaginalis*, las bacterias aerobias y facultativas poseen esta enzima, no así la mayoría de las anaerobias que, con el objeto de llevar a cabo la degradación del mismo sustrato, producen la peroxidasa.

La reacción catalizada por la catalasa es :



Dentro del laboratorio de Bacteriología, la prueba de la catalasa se utiliza generalmente para diferenciar al género *Streptococcus* (-) del *Staphylococcus* (+) y, con menor frecuencia, para hacerlo entre las especies de bacilos Gram positivos y entre las micobacterias. Para llevarla a cabo es necesario disponer, por un lado, de una solución de peróxido de hidrógeno al 30 % -almacenada en frasco ámbar y en refrigeración- y, por otro, de un cultivo puro de 18-24 h del microorganismo por probar; contenido en una caja de Petri o bien en tubos de ensayo exentos de sangre, toda vez que los eritrocitos poseen esta actividad enzimática.

El procedimiento más sencillo y rápido incluye el uso de un portaobjetos, en el cual se colocan, primeramente, una asada del microorganismo -ya sea que éste se encuentre en medios sólidos o en un cultivo líquido- y, posteriormente, se vierten sobre ésta una o dos gotas de la solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30 %. La reacción es tan rápida que bastan unos segundos para que en la solución que está en contacto con las células, se empiecen a notar burbujas ocasionadas por el O<sub>2</sub> que se desprende.

#### b) Diferenciación de especie

Una vez que el aislamiento se ha identificado plenamente como *Staphylococcus*, puede procederse a determinar la especie correspondiente, iniciando con la prueba de la coagulasa -para establecer si se trata de *S. aureus* o de ECN- (30).

La tabla 1 muestra los patrones de identificación de las principales especies patógenas para el humano.

Tabla 1. Pruebas involucradas en la identificación de las principales especies estafilocócicas (30, 35).

P R U E B A	1	2	3	4	5	6
COAGULASA	+	-	-	-	-	-
FACTOR AGLUTINANTE	+	-	-	-	(+)	+
TERMONUCLEASA	+	-	-	-	-	+
FOSFATASA ALCALINA	+	+	-	-	-	+
LECITINASA	+	-	-	-	-	-
ORNITINA DC	-	(d)	-	-	+	-
UREASA	d	+	-	+	d	-
RESISTENCIA A						
NOVOBIOCINA	-	-	-	+	-	-
MANITOLASA	+	(+)	-	-	+	+

CLAVES: 1 = *S. aureus*; 2 = *S. epidermidis*; 3 = *S. haemolyticus*; 4 = *S. saprophyticus*; 5 = *S. lugdunensis*; 6 = *S. schleiferi*; d = 11 a 89 % de cepas positivas; ( ) = reacción tardía.

A continuación se describen los aspectos relevantes de las pruebas más empleadas en los laboratorios clínicos y farmacéuticos, mismas que tienen como objetivo central diferenciar entre *S. aureus* y los ECN -como grupo-.

Prueba de la coagulasa (24, 30, 35)

La coagulasa es una proteína de composición química

desconocida y que resulta relativamente termoestable, ya que resiste temperaturas de hasta 60°C durante 30 minutos; es muy sensible a la acción de enzimas proteolíticas y, como posee una actividad similar a la de la protrombina -que la capacita para convertir el fibrinógeno en fibrina, aún cuando en el medio de reacción se encuentren ciertas sustancias anticoagulantes-, permite que el infectólogo la detecte mediante reacciones simples.

En cuanto a su función *in vivo*, ésta consiste principalmente en interferir la fagocitosis, debido a que genera la producción de redes de fibrina alrededor de los microorganismos, impidiendo que el fagocito entre en contacto con ellos para englobarlos; sin embargo, al parecer también neutraliza la actividad antimicrobiana que el suero normal manifiesta contra los agentes infectantes.

Tocante a su mecanismo de acción, existen evidencias de que la coagulasa puede inducir la activación de un mecanismo alterno de coagulación, habilitando a un componente del plasma, denominado factor reactivo de la coagulasa o FRC, para convertir el fibrinógeno en fibrina.

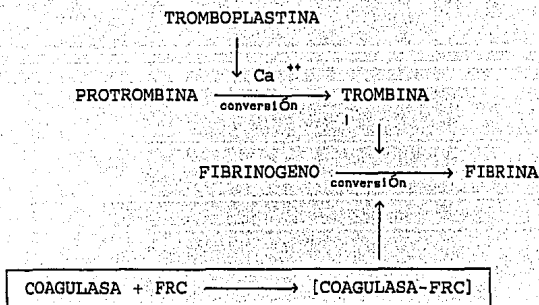
De hecho, se sugiere que la coagulasa es una sustancia muy parecida a la protrombina que, al reaccionar con el FRC, forma un compuesto muy parecido a la trombina. Este paso es el

decisivo porque, como es sabido, es la trombina la que activa al fibrinógeno para formar fibrina en el proceso normal de la coagulación.

De acuerdo a lo anterior, la coagulasa origina la coagulación del plasma en dos pasos: inicialmente se verifica una reacción entre la enzima producida por el microorganismo y el FRC y, posteriormente, las redes de fibrina son producidas por efecto del complejo formado en el paso anterior.

Recordando el proceso que se efectúa en la última etapa de la coagulación sanguínea en el organismo, es posible relacionar el mecanismo asociado a la enzima estafilocócica:

Diagrama 1. Los pasos cruciales en el proceso de coagulación de la sangre y su relación con la reacción en la que participa la coagulasa estafilocócica.





Como se puede observar en dicho diagrama, existen una coincidencia y una diferencia entre los mecanismos de la coagulación sanguínea y el que implica a la coagulasa: ambos requieren de fibrinógeno, pero el que implica a la enzima estafilocócica no necesita de la presencia de iones  $Ca^{++}$ .

En este sentido, debe recordarse que el plasma -a diferencia del suero- siempre contiene algún anticoagulante que mantiene atrapado al  $Ca^{++}$ . De esta manera, el hecho de que ocurra la coagulación durante la prueba, permite acreditar al microorganismo como productor de coagulasa. Sin embargo, para que lo anterior se considere como posibilidad única, es necesario que la cepa analizada sea pura, ya que otros microorganismos podrían utilizar al anticoagulante como fuente de carbono y, al degradarlo, la consecuente liberación del  $Ca^{++}$  reactivaría la ruta que se presenta en el organismo.

Otro aspecto importante en la realización de la prueba, radica en la elección del plasma que se va a emplear; debe considerarse principalmente su origen, ya que se ha encontrado que algunas cepas presentan resultados positivos con el humano y el de conejo, pero negativos con el de bovino.

Para llevar a cabo la prueba, se adicionan asepticamente 0.5 ml de plasma de conejo reconstituido en un tubo de ensayo estéril, al que posteriormente le son agregados 0.5 ml de un

cultivo líquido y puro de 18-24 h del microorganismo analizado; los componentes se mezclan rotando el tubo y se procede a incubar a 37°C hasta que se observe la formación, bien sea de redes de fibrina o de un coágulo.

La reacción se considerará positiva si ocurre cualquier grado de coagulación visible dentro del tubo. Las bacterias coagulasa fuertemente positiva pueden producir el coágulo dentro de las primeras cuatro horas, razón por la que es recomendable leer el resultado a intervalos de 30 minutos, ya que *S. aureus* también produce fibrinolisin, y la acción de éstas puede destruir el coágulo, provocando la obtención de resultados falsos negativos cuando se toman las lecturas en lapsos mayores. Otras cepas de *S. aureus* sólo son capaces de producir suficiente cantidad de coagulasa hasta que transcurren cerca de 18 h. Por tal motivo, es conveniente revisar nuevamente a las 24 h los cultivos que en los primeros tiempos se observen como coagulasa negativa.

Finalmente, es importante hacer notar que, a mayor virulencia de la cepa analizada, menor será el tiempo en que la prueba será positiva.

#### Prueba del factor aglutinante (30, 35)

El factor aglutinante -antes conocido como coagulasa ligada- debe su nombre actual a que las pruebas en que se manifiesta

aparentan reacciones de aglutinación; dicha sustancia se encuentra íntimamente ligada a la célula bacteriana (aunque se desconoce la naturaleza de dicha unión), por lo cual no se encuentra en filtrados de cultivos y puede ser detectada mediante una prueba en portaobjetos. Por otra parte, el hecho de que su reactividad no se vea afectada por la acción de anticuerpos inducidos por la coagulasa demuestra que la estructura química de ambas es diferente, además de que convierte el fibrinógeno en fibrina directamente, sin la necesidad de que intervengan factores plasmáticos.

La realización de la prueba es sencilla y rápida, ya que basta poner en un portaobjetos una colonia del microorganismo suspendida en solución fisiológica estéril homogeneizada y, a un lado de ella, una gota de plasma; ambas partes se mezclan perfectamente con un aplicador de madera y la observación de un precipitado granular o de acúmulos blancos al cabo de 20 a 30 segundos deberá interpretarse como positiva; cuando estas características no se presentan dentro de los dos o tres minutos siguientes a la ejecución, la prueba se reportará negativa.

Es importante mencionar que el factor aglutinante y la coagulasa pueden tener el mismo valor diagnóstico en los laboratorios clínicos, siempre que el primero se haya detectado en la prueba correspondiente. Sin embargo, cuando

sólo se realiza esta última y ha resultado negativa, el analista estará obligado a llevar a cabo la prueba de la coagulasa, en razón de que 15 a 45 % de las cepas de *S. aureus* no es productor de factor aglutinante.

Prueba de la nucleasa termoestable (30, 35, 38)

Otro recurso utilizado para clasificar a los estafilococos dentro de la especie *S. aureus*, está basado en la detección de enzimas capaces de degradar al DNA. Sin embargo, se ha comprobado que en dicho género existen dos complejos diferentes que catalizan la reacción, a los cuales se conoce como DNAsa termolábil y DNAsa termoestable, respectivamente, y que en realidad sólo el segundo de ellos puede establecer la presencia de *S. aureus* -aunque este microorganismo sintetiza ambos-.

Para demostrar la existencia de los dos complejos enzimáticos en los estafilococos, los investigadores recurrieron a introducir una pequeña variante en la metodología original, la cual consiste en exponer a la cepa -cuya actividad se desea investigar-, a temperaturas de 90 a 100°C, antes de inocularse en el medio que contiene al sustrato.

Al complejo enzimático capaz de llevar a cabo su actividad degradativa después de haber sido expuesto a la temperatura, se le conoce como DNAsa estable al calor o termorresistente,

mientras que, al que pierde esa capacidad, se le denomina DNasa termolábil.

Las formas termorresistente y termolábil se han puesto de manifiesto en la mayoría de los ECP, en tanto que en los ECN sólo se ha demostrado la presencia de la última de ellas. Sin embargo, la prueba considerada como definitiva para la detección de *Staphylococcus aureus* -tanto en las industrias alimentaria y farmacéutica, como en el laboratorio clínico- es la prueba de la coagulasa.

La metodología que se sigue para llevar a cabo la prueba que evalúa la producción de DNasa por los microorganismos, es bastante sencilla: se parte de un cultivo puro del microorganismo cuya actividad se desea probar -ya sea que se tenga en un medio líquido o en uno sólido-, el cual se siembra por estría en el medio agar para DNasa, que contiene DNA entre sus componentes; posteriormente se incuba a 35°C durante 18-24 h y, una vez que se ha obtenido desarrollo, se adiciona 1 ml de HCl 1 N que se distribuye sobre toda la superficie del medio; al cabo de 3 minutos, aparecerán zonas transparentes alrededor de las colonias productoras de DNasa, mientras que alrededor de aquellas que no lo hagan, el medio conservará el aspecto opaco que el DNA confiere al mismo. Cabe señalar que puede ser sembrada en alguna otra porción de la superficie del medio, alguna cepa que haga las veces de control negativo, con

el objeto de que las personas que no cuentan con experiencia en la interpretación de los resultados de esta prueba, puedan comparar entre una reacción positiva y una negativa.

En cuanto a la prueba que evalúa de una manera cualitativa únicamente la producción de DNAsa termorresistente, ésta tiene como variantes que el cultivo puro de microorganismos por probar debe tenerse en forma líquida, de tal manera que antes de ser sembrado en el medio agar para DNAsa, pueda resistir una exposición a la temperatura de un baño de agua hirviendo durante 15 minutos, sin que por ello pueda verse fundido el medio o inundado el cultivo (lo cual puede ocurrir si en su lugar es expuesta una placa que contenga medio sólido); la metodología posterior es la misma que la anteriormente mencionada.

#### Prueba de la lecitinasa (30, 35)

La lecitina o yema de huevo, es un fosfolípido y representa el sustrato natural sobre el cual actúan las lecitinasas.

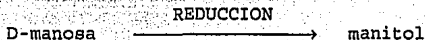
Desde el punto de vista de la identificación de *S. aureus*, esta prueba es la más utilizada en análisis de alimentos para detectar la presencia de esta especie, misma que figura entre los principales agentes causales de intoxicaciones alimentarias.

La prueba consiste en inocular las muestras en el medio Baird Parker, que se elabora adicionando yema de huevo a la base. El fosfolípido confiere una turbiedad evidente al medio, y ésta se pierde alrededor de las colonias lecitinasas positivas, previa incubación de 24 h a 35°C.

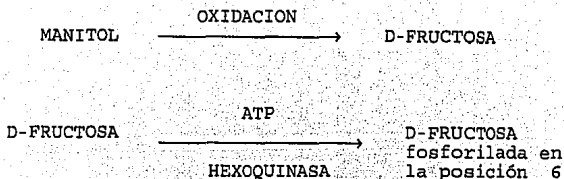
Cabe mencionar que el medio Baird Parker también contiene 1 % de  $K_2TeO_3$ , por lo cual las colonias de *S. aureus* manifestarán una coloración negra, además de ser circundadas por halos transparentes asociados a la hidrólisis de la lecitina.

Prueba de la manitolasa (24, 30, 35, 36)

Con este nombre se conoce al sistema enzimático mediante el cual una célula bacteriana es capaz de llevar a cabo la utilización de manitol; químicamente, éste es un azúcar-alcohol o un alcohol polihídrico, muy similar a otros -adonitol, dulcitol y sorbitol-, que también son producidos a partir de la reducción de monosacáridos:



La vía mediante la cual *S. aureus* metaboliza a este compuesto es la glicólisis, misma que sucede una vez que han ocurrido reacciones en las que se ven involucradas isomerasas, ligasas, transferasas y oxidorreductasas, para transformar al manitol o a la manosa -según el caso-, en fructosa-6-fosfato.



De esta manera, el sustrato será incorporado al sistema Embden Meyerhoff-Parnas, cuyos productos finales ácidos provocarán una disminución en el pH del medio de cultivo, que podrá detectarse mediante el virre a amarillo del indicador rojo de fenol.

La prueba de la manitolasa constituye una reacción que, dada su aceptable exactitud y sencillez, es utilizada en muchos laboratorios para diferenciar a la especie *S. aureus* -que la da positiva- de la mayoría de los ECN -que no lo hacen-. Puede ser llevada a cabo tanto en medio sólido como en medio líquido, si bien una parte de los analistas prefiere efectuarla en el primero, al mismo tiempo que se aísla al microorganismo en medios selectivos con alta concentración de NaCl -como el manitol sal agar-.

De esta manera, se reduce el tiempo de diagnóstico, aunque existe un serio inconveniente: el índice de confiabilidad de la prueba no es del 100 % y, de no realizarse también la reacción de la coagulasa, se estará corriendo el riesgo de



reportar erróneamente al microorganismo aislado, con toda la problemática que ello origina.

La técnica se reduce a sembrar la muestra o a la bacteria en manitol sal agar o en caldo manitol rojo de fenol -respectivamente-, dado que sus composiciones incluyen tanto al sustrato como el indicador, los medios se incuban posteriormente durante 24 h, después de las cuales se hará la lectura de los resultados, interpretándose la prueba como positiva cuando el indicador del medio ha virado a amarillo o, como negativa, cuando dicha coloración es roja.

Cabe mencionar que en algunos laboratorios se prefiere realizarla en el medio líquido dado que, a la vez que se lleva a cabo, se obtiene el cultivo líquido de 24 h a partir del cual puede llevarse a cabo la prueba de la coagulasa en tubo; esto implica un considerable aumento en el tiempo de identificación, pero con ello se aumenta la confiabilidad del diagnóstico.

## II. GENERALIDADES ACERCA DE LAS ENTEROBACTERIAS

### i. Especies principales

Dentro de este grupo en estudio, las especies de mayor relevancia son: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* y *Citrobacter freundii*, clasificadas como fermentadoras de lactosa (Lac +), y *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris*, consideradas como no fermentadoras de lactosa (LAC -). Cabe señalar que todas son facultativas y pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* (41).

### ii. Características comunes

Los miembros de este grupo en estudio son bacilos Gram negativos, sin agrupación, que miden 0.6 a 0.8  $\mu$  de ancho por 2 a 4 de largo; son móviles (excepto *Klebsiella* y *Shigella*), no esporulados y sólo *Enterobacter*, *Klebsiella* y algunas pocas cepas de *E. coli* presentan cápsula (2, 8, 20).

Además, no son exigentes en cuanto a sus requerimientos

nutricionales, pudiendo desarrollar en medios sencillos, previa incubación de 24 h a 35°C; sus colonias suelen ser blancas o grisáceas -en medios que no contienen indicadores-, de 2 a 6 mm de diámetro, no hemolíticas, convexas, de bordes regulares y aspecto húmedo (2, 20).

### iii. Algunas características particulares (1, 4, 8, 41)

Los siguientes aspectos resultan de gran utilidad para lograr la identificación y/o el aislamiento de estos microorganismos:

-*E. coli* es indol +, citrato - y ureasa -, amén de su capacidad para fermentar rápidamente la lactosa, lo cual origina la producción de reflejos verdosos en agar eosina - azul de metileno (EMB) y Endo (3).

-*K. pneumoniae* y *E. aerogenes* forman colonias grandes, mucoides, de desarrollo confluyente (encimadas), debido a que sintetizan grandes cápsulas. La diferencia principal entre ambas es la movilidad, que resulta negativa para la primera y positiva para la segunda (42).

-*Citrobacter freundii* debe su nombre a su capacidad para utilizar citrato como fuente de carbón (característica que no está limitada a este género), y es la única enterobacteria Lac + que produce H<sub>2</sub>S.

-*Salmonella sp* es H<sub>2</sub>S + y ureasa -.

-*Shigella sp* suele no desarrollar en agar verde brillante.

-*S. marcescens* produce frecuentemente un pigmento no hidrosoluble rosa intenso (11).

-*P. mirabilis* y *P. vulgaris* son H<sub>2</sub>S +, ureasa + y formadores de *swarming* (crecimiento en enjambre). Se diferencian entre sí considerando la producción de indol, que es negativa para la primera y positiva para la segunda (28).

#### iv. Aislamiento y diferenciación macroscópica (1, 4, 8, 9, 20)

Como se ha mencionado con anterioridad, estas bacterias crecen adecuadamente en gelosa nutritiva y, por ende, también lo pueden hacer en tripticase-soya agar, gelosa sangre, gelosa chocolate y muchos otros. No obstante, los medios más empleados para su aislamiento (tabla 1), se clasifican como selectivos y diferenciales, puesto que contienen inhibidores para Gram positivos y, adicionalmente, permiten diferenciar entre las colonias Lac + y Lac -, debido a que su formulación incluye lactosa y un indicador que detecta los cambios de pH.

Las siguientes son consideraciones relevantes sobre los medios señalados en la tabla 2:

-Su pH original es neutro. Consecuentemente, su coloración inicial será la de sus respectivos indicadores a dicho pH.

Tabla 2. Medios más utilizados para llevar a cabo el aislamiento de enterobacterias y *Pseudomonas* (1, 4).

MEDIO	INHIBIDOR	INDICADOR	DETEC- TA H <sub>2</sub> S
AGAR ENDO	FUCSINA	FUCSINA	NO
AGAR EMB	AZUL DE METILENO	EOSINA	NO
TERGITOL 7*	HEPTADECIL- SULFATO	AZUL DE BROMO TIMOL	NO
MAC CONKEY	CRISTAL VIOLETA	ROJO NEUTRO	NO
AGAR SS*	SALES BILIARES	ROJO NEUTRO	SI
AGAR XLD	DESOXICOLATO	ROJO DE FENOL	SI
AGAR VB	VERDE BRILLANTE	ROJO DE FENOL	NO
HECKTOEN*	SALES BILIARES	AZUL DE BROMO TIMOL	SI

CLAVES: \* = Inhiben regularmente el *swarming* de *Proteus*; EMB = eosina-azul de metileno; SS = *Salmonella-Shigella*; XLD = xilosa-lisina-desoxicolato; VB = verde brillante.

-Contienen como carbohidrato único lactosa, o bien, éste y algún otro fermentable sólo por microorganismos Lac +.

-Su formulación incluye peptonas que, además de representar su fuente de nitrógeno, pueden ser utilizadas como fuente de carbón, tanto por las bacterias Lac -, como por las Lac +, en este último caso, cuando la lactosa ha sido consumida totalmente.

-Una vez sembrados, las observaciones macroscópicas deben

realizarse 24 h después: los microorganismos Lac + habrán generado acidez y las Lac - habrán originado alcalinidad. En otras palabras, el indicador habrá virado, confiriéndole una coloración a las colonias Lac + y al agar que las circunda, y otra muy diferente a las Lac -, incluyendo su periferia.

Dichas coloraciones dependerán del comportamiento del indicador del medio, de acuerdo a lo señalado en la tabla 3.

Tabla 3. Comportamiento de los indicadores contenidos en los medios señalados en la tabla 2 (41).

INDICADOR	----- C O L O R A C I O N E S -----		
	a pH < 7	a pH de 7	a Ph > 7
FUCSINA	rojo magenta	rosa claro	rosa claro
EOSINA	vino oscuro	vino claro	vino claro
AZUL DE BROMO TIMOL	amarillo	verde	azul
ROJO NEUTRO	rosa intenso	rosa claro	amarillo paja
ROJO DE FENOL	amarillo	rojo naranja	rojo intenso o lila

Con los datos anteriores, pueden deducirse las características macroscópicas de cada uno de los microorganismos en estudio. Los planteamientos y el orden en que el químico los debe hacer se enlistan a continuación:

1. Clasificación del microorganismo en relación a la fermentación de la lactosa. Con ello se determinará si, tras 24 h de incubación, habría generado acidez o alcalinidad.
2. El medio de que se trata, para discriminar el indicador involucrado.
3. La coloración del indicador, según el pH generado por el microorganismo.
4. La posibilidad de que alguna de las características de la bacteria se pueda manifestar en el medio en cuestión.

Ejemplo # 1: Deducción de las características macroscópicas de *E. coli* en el agar verde brillante:

-De acuerdo al punto # 1, se considerará que se trata de un Lac + y que, por lo tanto, generará acidez.

-Referente al punto # 2, se deberá recordar que el indicador implicado es el rojo de fenol.

-En cuanto al planteamiento # 3, se deberá haber aprendido que dicho indicador, en condiciones de acidez, es amarillo.

-Sobre el punto # 4, se tendrá que saber que ninguna de las características particulares anotadas para *E. coli* (indol +, citrato - y ureasa -) pueden manifestarse en el agar verde brillante.

Por lo tanto, la descripción macroscópica correspondiente será: colonias amarillas (convexas, de bordes regulares y de 2 a 6 mm de diámetro), que viran a dicha coloración el agar que las circunda.

Ejemplo # 2: Dedución de las características macroscópicas de *Salmonella sp* en el agar SS:

# 1: Es Lac - y, por tanto, generará alcalinidad.

# 2: El indicador del SS es rojo neutro.

# 3: La coloración del rojo neutro es amarillo paja en condiciones alcalinas.

# 4: *Salmonella* es H<sub>2</sub>S y éste puede detectarse en el SS.

Conclusión: Las colonias de *Salmonella* en SS son (de 2 a 6 mm de diámetro, convexas, de bordes regulares) negras o amarillo paja con el centro negro y viran el medio que las circunda a amarillo paja.

Ejemplo # 3: Dedución de las características macroscópicas de *S. marcescens* en Tergitol 7:

# 1: Es Lac - y alcaliniza.

# 2: El indicador involucrado es el azul de bromo-timol.



# 3: La coloración del indicador es azul en condiciones alcalinas.

# 4: *S. marcescens* suele producir un pigmento rosa intenso no hidrosoluble.

Conclusión: Las colonias de *S. marcescens* en T7 son (de 2 a 6 mm de diámetro, convexas, de bordes regulares) rosa intenso (o azules) y viran a azul el medio que las circunda.

#### v. Identificación bioquímica (3, 11, 24, 28, 30, 42)

El patrón mínimo suficiente para llevar a cabo la identificación de estos microorganismos se señala en la tabla 4.

Aunque existen numerosas pruebas para llevar a cabo la identificación de estas bacterias, prácticamente cada laboratorio selecciona las que considera más confiables, tomando en cuenta también los costos y su disponibilidad. En general, los medios implicados suelen contener diferentes fuentes de carbón y algún revelador que permite poner de manifiesto el tipo de enzimas producido por cada microorganismo, obteniéndose finalmente un patrón de resultados que conduce a su detección.

En otras palabras, dichas pruebas bioquímicas suelen

diferenciar al género y, ocasionalmente, a la especie aislada, con base en su capacidad "específica" para utilizar o no los sustratos involucrados.

Tabla 4. Patrón bioquímico para la identificación de enterobacterias.

MICROORGANISMO	GLU	LAC	GAS	SUL	IND	MOV	CIT	SAC	URE	MAN	V-P
<i>E. coli</i>	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
<i>K. pneumoniae</i>	+	d	+	-	-	-	+	d	d	+	+
<i>E. aerogenes</i>	+	+	+	-	-	+	+	d	d	+	+
<i>C. freundii</i>	+	+	d	+	-	+	+	d	-	+	-
<i>S. typhi</i>	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
<i>S. enteritidis</i>	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-
<i>Shigella sp</i>	+	-	-	-	d	-	d	-	-	+	-
<i>S. marcescens</i>	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	d
<i>P. mirabilis</i>	+	-	-	+	-	+	d	-	+	-	-
<i>P. vulgaris</i>	+	-	-	+	+	+	d	-	+	-	-

CLAVES: GLU = fermentación de glucosa; LAC = fermentación de lactosa; GAS = H<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub>; SUL = ácido sulfhídrico; IND = indol; MOV = movilidad; CIT = citrato; SAC = fermentación de sacarosa; URE = ureasa; MAN = fermentación de manitol; V-P = Voges Proskauer.

Aunque es muy conveniente comparar la totalidad de los resultados con tablas elaboradas después de numerosos estudios experimentales (consultar la tabla 4), algunas pruebas representan verdaderos indicadores sobre la identidad de cada

bacilo Gram negativo. Por ejemplo, entre los lactosa positiva, sólo *E. coli* convierte al triptofano en indol y *C. freundii* es el único H<sub>2</sub>S positivo; de la misma manera, las colonias grandes y mucoides de desarrollo confluyente únicamente se asocian a *Klebsiella* y *Enterobacter*, por lo cual la movilidad -que en la primera es negativa y en la segunda positiva- suele ser suficiente para diferenciarlas. Finalmente, con respecto a los lactosa negativa, la mayoría de las cepas de *Salmonella sp* es H<sub>2</sub>S positivo, tal como sucede con *Proteus*, pero ambos géneros difieren en cuanto a la ureasa, la cual es positiva para este último; por su parte, *Shigella sp* es inmóvil.

Las pruebas bioquímicas elegidas en este trabajo se mencionan a continuación, describiendo brevemente sus respectivos fundamentos:

#### Pruebas efectuadas en el agar hierro de Kligler (24, 30)

En este medio es posible determinar si los microorganismos fermentan o no glucosa y lactosa, así como su capacidad para producir gas (H<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub>) y/o ácido sulfhídrico. El fundamento correspondiente se asocia al hecho de que dicho medio se encuentra inclinado en "pico de flauta" y contiene peptonas, 1 % de lactosa, 0.1 % de glucosa y trazas de rojo de fenol, así como tiosulfato sódico y sales de hierro; la bacteria analizada se siembra por estría ondulada sobre el "pico de

flauta" y por picadura en el fondo del tubo, procediéndose a incubar durante 24 h a 35°C, para realizar las lecturas correspondientes.

Los resultados pueden ser los siguientes:

- 1) Glucosa positiva y lactosa positiva, cuando todo el medio de cultivo manifiesta coloración amarilla.
- 2) Glucosa positiva y lactosa negativa, cuando la porción inferior del medio es amarilla y la del "pico de flauta" aparece rojo intenso o lila.
- 3) Glucosa negativa y lactosa negativa, si todo el medio permanece rojo o esta coloración se intensifica, o inclusive, ocurre un vire a lila.

Cabe señalar que las coloraciones amarilla y roja intensa -o lila- de los 3 casos anteriores, se relacionan con el vire del rojo de fenol a pH ácido y alcalino, dependiendo de la fuente de carbón utilizada y de la concentración de esta última: un microorganismo glucosa positiva y lactosa negativa consumirá rápidamente la glucosa del "pico de flauta" originando inicialmente un pH ácido, pero a las 24 h se encontrará empleando las peptonas de esa porción y ésta manifestará alcalinidad -coloración roja intensa o lila-. Lo anterior no sucederá en el fondo del tubo, puesto que en ella existe mayor

cantidad de glucosa y, en ese lapso, la parte inferior continuará ácida (amarilla).

4) Producción de gas, cuando el agar manifiesta ruptura o se desplaza hacia la parte superior del tubo.

5) Síntesis de ácido sulfhídrico, cuando independientemente de la coloración relacionada con el comportamiento del rojo de fenol- se observa un precipitado negro.

#### Capacidad para utilizar citrato (24, 30)

Esta prueba se realiza en el agar de Simmons cuya presentación es inclinada "en pico de flauta", y su contenido fundamental es: citrato como única fuente de carbón, fosfato dibásico de amonio como única fuente de nitrógeno e indicador azul de bromotimol.

La bacteria se siembra sobre la superficie del "pico de flauta" y el medio se incuba durante 24 h a 35°C antes de realizar la lectura. La prueba se considera positiva si el indicador vira a azul -originalmente es verde- en la porción que circunda al desarrollo; el cambio se debe a la hidrólisis de la sal aminada -la cual reditúa hidróxido de amonio que alcaliniza el medio-, fenómeno que sólo se presenta cuando el microorganismo es capaz de emplear el citrato. Es preciso recordar que las bacterias se procuran una fuente de nitrógeno, siempre y cuando dispongan de la de carbón.

## Prueba de la manitolasa (24, 30)

El nombre de manitolasa se refiere a todo un conjunto o complejo de enzimas encargadas de llevar a cabo la transformación del manitol, un azúcar-alcohol, en fructosa 6-fosfato, con lo cual es posible incorporar al sustrato dentro del ciclo Embden-Meyerhoff, redituando ácidos orgánicos cuya presencia se puede detectar con base en el vire de un indicador ácido-base.

El medio más utilizado para realizar esta prueba es el caldo manitol rojo de fenol, que contiene principalmente manitol, peptonas y rojo de fenol.

Previo incubación a 35°C durante 24 h, la lectura se efectúa considerando que la prueba es positiva cuando el indicador ha virado a amarillo o, en su defecto, negativa si dicha coloración es roja intenso o lila.

## Pruebas de la ureasa y de fermentación de sacarosa (24, 30)

El medio utilizado en el presente trabajo fue el caldo sacarosa-urea, que contiene principalmente urea, sacarosa, rojo de fenol y azul de bromotímol.

En esta prueba, la urea es o no hidrolizada dependiendo de que

el microorganismo produzca ureasa, la cual se considera una enzima constitutiva. En caso positivo, esta última catalizará la reacción produciéndose dióxido de carbono, amoníaco y agua y, con ello, se generará carbonato de amonio -cuyo pH es alcalino-. De esta manera, el vire de los indicadores rojo de fenol y azul de bromotimol conferirán una coloración morada o lila al medio.

Por otra parte, si la bacteria posee capacidad para fermentar sacarosa -lo cual generalmente no sucede cuando produce ureasa-, los ácidos originados vía Embden-Meyerhof disminuirán el pH del medio, apareciendo una coloración amarilla.

Cabe señalar que, una vez que se ha llevado a cabo la inoculación correspondiente, la lectura se efectúa previo período de incubación de 24 h a 35°C.

### III. LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS DEL TRACTO GENITAL FEMENINO

En general, se acepta que el tracto genital femenino se divide en 2 porciones: el inferior, constituido por vulva, vagina y cérvix y, el superior, en donde se localizan el útero, las trompas de Falopio y los ovarios (16, 18, 23).

Dicha clasificación no sólo resulta útil desde el punto de vista anatómico sino que, además, permite establecer algunas diferencias referentes a la etiología de los padecimientos que se presentan en ambas regiones; en este sentido, puede afirmarse que las afecciones infecciosas de la zona inferior se deben comúnmente a microorganismos de transmisión sexual, en tanto que las de la superior son ocasionadas con mayor frecuencia por los integrantes de la flora habitual, los cuales llegan a desplazarse a partir del tracto inferior, aprovechando diversas irregularidades que favorecen esta situación (18, 23).

Lo antes mencionado determina que, en condiciones de salud, los integrantes de la flora genital sólo colonizan la región inferior, destacando la constancia de los estreptococos del grupo *Viridans*, los estafilococos coagulasa negativa (ECN), *Neisseria lactamicus*, *Veillonella sp.* *Streptococcus*



agalactiae, los difteroides, *Mycobacterium smegmatis*, el bacilo de Döderlein (*Lactobacillus sp*), *Candida albicans* y, dada la cercanía del recto, los estreptococos del grupo D (*Enterococcus sp*), algunas especies de *Pseudomonas* -principalmente *P. aeruginosa*- y ciertas enterobacterias. No obstante, la observación de los 3 últimos se restringe a personas que muestran menores cuidados respecto a sus hábitos de higiene (1, 16, 18, 23).

Cabe señalar que la frecuencia de estos microorganismos es más elevada en las mujeres sexualmente activas y que a ellos se pueden incorporar otros, en función del número de parejas sexuales, del empleo de anticonceptivos orales y de numerosos factores más que pueden variar la integridad de las mucosas y el pH vaginal (1, 16, 18, 20, 23).

En cuanto a los principales agentes etiológicos de las afecciones genitales, éstos pueden dividirse en 2 grandes grupos (1):

1. Los que no se adquieren por contacto sexual.
2. Los que se transmiten sexualmente.

Las tablas 5 y 6 resumen a los de mayor trascendencia.

Tabla 5. Principales agentes etiológicos de afecciones genitales, que no se adquieren por contacto sexual (1, 8, 9)

Microorganismos	Enfermedad que causan
<i>Staphylococcus aureus</i>	vaginitis
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	vaginitis
Enterobacterias	vaginitis
<i>Clostridium perfringens</i>	necrosis intrauterina
<i>Streptococcus agalactiae</i>	fiebre puerperal
<i>Candida albicans</i>	vaginitis

Tabla 6. Principales patógenos del tracto genital, que se transmiten sexualmente (1, 8, 9).

Microorganismo	Enfermedad que causan
<i>Chlamydia trachomatis</i>	cervicitis, UNG, etc.
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	gonorrea
<i>Treponema pallidum</i>	sífilis
<i>Gardnerella vaginalis</i>	vaginosis
<i>Mobiluncus sp</i>	vaginosis
<i>Haemophilus ducreyi</i>	chancroide
<i>Calymmatobacterium granulomatis</i>	granuloma inguinal
<i>Herpesvirus hominis</i>	herpes genital
HIV	SIDA
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Tricomoniiasis
<i>Candida albicans</i>	vaginitis

Por lo que se refiere a los de naturaleza bacteriana destacan, en el primer grupo, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y las enterobacterias, dado que la frecuencia con la que afectan *C. perfringens* y *S. agalactiae* es más reducida; ello se debe a que la necrosis intrauterina y la fiebre puerperal sólo son importantes en las zonas rurales, en donde los partos se realizan de manera deficiente -en lo referente a la asepsia- y los antibióticos no se emplean como medida preventiva.

Por su parte, las bacterias más sobresalientes del segundo grupo son *Chlamydia trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. pallidum*, así como *G. vaginalis*, *Mobiluncus sp* y otras bacterias anaerobias -en coparticipación-, aunque no puede soslayarse el papel de *H. ducreyi* y *Calymmatobacterium granulomatis* (1, 8, 9).

Tal como lo indica la tabla 5, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y las enterobacterias causan principalmente vaginitis; en este sentido, es difícil acreditar a estos microorganismos el origen del cuadro, cuando se les aísla de las muestras, debido a que también se les observa con cierta regularidad en los genitales de las personas sanas (1, 2, 8, 20).

Por el contrario, el hallazgo de las bacterias citadas en el segundo grupo no da lugar a mayores problemas para señalarlos como responsables de la afección, pues aunque ello no

garantiza su participación en las alteraciones, es difícil ignorar su incuestionable virulencia (1, 2, 8, 20).

En el caso de *Chlamydia trachomatis*, los reportes generados en los últimos años la reconocen como el agente causal más importante de las enfermedades genitales; de hecho, se asegura que dobla y triplica la incidencia de *N. gonorrhoeae* en los padecimientos que aquejan a esta región del organismo, pudiendo ocasionar embarazos ectópicos, abortos e infertilidad. Cabe mencionar que las cepas más importantes de esta especie -relacionadas con los genitales humanos- pertenecen a la variedad TRIC y a los serotipos D a la K (12, 13, 32).

Desafortunadamente, en los países en vías de desarrollo aún no se le concede a este microorganismo el interés que se debiera, pero ello se debe fundamentalmente a que no se le puede identificar en las muestras mediante los métodos convencionales, en virtud de que se trata de un parásito intracelular obligado, incapaz de desarrollar en los medios comunes de laboratorio (1, 12, 13).

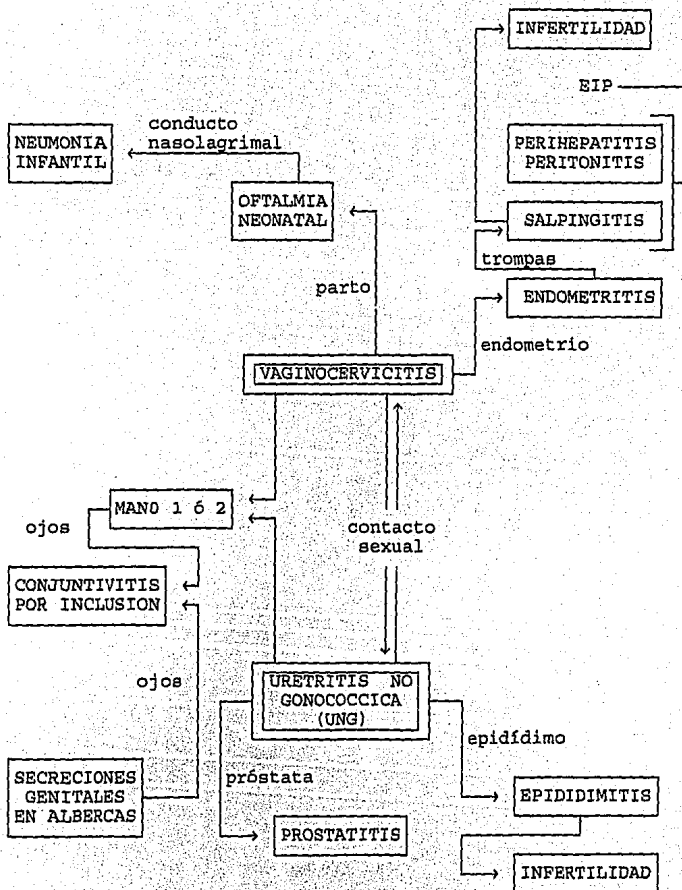
No obstante, es posible que en un futuro cercano todos los laboratorios clínicos hayan adoptado alguna de las numerosas pruebas que detectan a *C. trachomatis*, dado que la frecuencia con la que se le cita en la literatura terminará seguramente por convencer a los equipos de salud sobre su incuestionable

interés. Hasta el momento, el cultivo de esta bacteria en células McCoy o HeLa representa la técnica más confiable para diagnosticar las enfermedades que produce; sin embargo, en la actualidad ya existen otros métodos que pueden utilizarse con eficacia, entre los que se cuenta la detección de antígenos clamidiales por inmunofluorescencia directa, ensayos inmunoenzimáticos, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), e inclusive, mediante técnicas de fijación en superficie, que podrían resultar las más accesibles -desde el punto de vista económico- (1, 13).

Los diagramas 2 y 3 resumen, respectivamente, las principales vías de transmisión/propagación de *C. trachomatis* y los eventos involucrados en el ciclo vital de este microorganismo (12, 13).

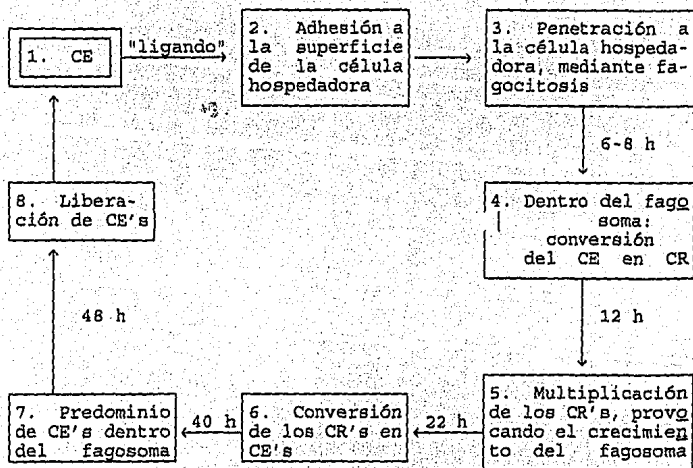
Por lo que se refiere a *N. gonorrhoeae*, esta especie continúa ocasionando una pandemia a nivel mundial; como se sabe, las entidades clínicas a las que se le asocia con mayor frecuencia son: la vaginocervicitis -en la mujer- y la uretritis aguda -en el varón-, las cuales cursan con secreción purulenta, sensación de micción frecuente, ardor al orinar, e inclusive, con febrícula y dolor abdominal -principalmente en la mujer-. Adicionalmente, la falta del tratamiento adecuado puede originar que dichos cuadros se extiendan de manera muy similar a lo señalado en el diagrama 2, exceptuando lo referente a la conjuntivitis por inclusión y a la neumonía neonatal, pero

Diagrama 2. Principales afecciones asociadas a *C. trachomatis* (12).



CLAVE: EIP = Enfermedad inflamatoria pelviana.

Diagrama 3. Eventos principales del ciclo vital de *C. trachomatis* (13).



CLAVE: CE = cuerpo elemental y CR = cuerpo reticular (plurales: CE's y CR's). El CE contiene al "ligando" y, por ello, es la forma celular encargada de infectar a la célula hospedadora u hospedera; por su parte, el CR es la forma metabólicamente activa y, por consecuencia, corresponde a la estructura capaz de reproducirse.

considerando la posibilidad de que ocurra septicemia, artritis, endocarditis y meningitis. Al parecer la diseminación hematogena se encuentra restringida a un biotipo de gonococos, auxótrofo para arginina, uracilo e hipoxantina (1, 2, 4, 8, 9, 17, 20, 44).



Como sucede en varias enfermedades de transmisión sexual (ETS), la elevada incidencia de la gonorrea se debe a diversos factores, destacando el aumento de la promiscuidad, la existencia de los anticonceptivos orales y el gran número de individuos asintomáticos. Asimismo, los grupos etarios más afectados son los integrados por jóvenes -incluyendo a los adolescentes-, lo cual refleja, junto con los alarmantes índices de maternidad entre mujeres de 13 a 15 años, la necesidad de mejorar la educación sexual -a nivel mundial- (17, 44).

En el laboratorio, el diagnóstico se lleva a cabo mediante el aislamiento e identificación del microorganismo en las secreciones o los raspados uretrales o endocervicales; deben recolectarse 2 muestras de cada paciente: una de ellas para realizar un frotis al Gram y, la otra, para intentar el cultivo, sembrando -mediante rotación del hisopo sobre la superficie del medio- en el Thayer Martin modificado (MTM) y en una gelosa chocolate. La razón de que se empleen los 2 medios radica en que algunas cepas de gonococos resultan sensible a la vancomicina -contenida en el MTM-; previa incubación de 48 h a 35°C, en atmósfera de 5 a 10 % de CO<sub>2</sub>, se localizan las colonias cuya morfología resulte sospechosa -pequeñas, grisáceas de bordes regulares- y se resiembran 5 a 10 de ellas en otra placa única de gelosa chocolate, para propagarlas durante otras 24 a 48 h y que el crecimiento de cada una resulte suficiente para llevar a cabo frotis al Gram

-buscando los característicos diplococos Gram negativos-, pruebas de las oxidasas -dado que este género es uno de los relativamente pocos que la dan positiva- y, en caso de que con ambas actividades se confirme la presencia de *Neisseria* o *M. catarrhalis*, se puedan tomar 5 asadas para sembrar tubos de CTA con glucosa, maltosa, lactosa, sacarosa y fructosa, respectivamente. El diagnóstico se habrá logrado si alguna de las colonias -aisladas y posteriormente propagadas- sólo manifiesta acción oxidativa sobre la glucosa (1, 19, 20, 39).

En cuanto a *T. pallidum*, éste continúa mencionándose entre los principales causantes de ETS, en virtud de que la sífilis se mantiene con índices importantes. Esta enfermedad tiene un período de incubación de 10 a 60 días -media 21-, después del cual aparece la etapa primaria, que es la única que afecta directamente a los genitales; en éstos aparecen entre 1 y 5 chancros -erupciones planas y rojizas rodeadas por tejido endurecido, que aunque se ulceran drenando pequeñas cantidades de secreción mucopurulenta, son generalmente indoloras-. Cabe señalar que 2 a 8 semanas después de aparecer el (los) chancro(s), éstos curan espontáneamente -al migrar el microorganismo hacia los linfáticos de las ingles-. Este suceso suele engañar al paciente que no acude a consulta, haciéndole pensar que curó; por ello, la enfermedad continúa evolucionando y, después de 3 a 10 semanas de finalizado el lapso genital (o etapa primaria), aparece la etapa secundaria

que se caracteriza por la presencia de eritemas y exantemas -muy contagiosos- en la piel de palmas, plantas y tronco (1, 5, 9, 20).

La distribución de este tipo de lesiones refleja el hecho de que *T. pallidum* se ha diseminado en todo el organismo del enfermo, por lo cual se puede comprender la gravedad del padecimiento aunque, también, es gracias a ello que la respuesta inmune se generaliza, pudiendo erradicar al microorganismo (1).

De esta manera, casi el 50 % de los sifilíticos puede sanar por completo; sin embargo, en la casi mitad que resta, sobreviene la etapa terciaria -neurosífilis-, previo período de latencia de 3 a 10 años.

En la neurosífilis, son muy pocas las espiroquetas que han resistido la acción lítica del sistema inmunológico, las responsables de los cuadros. El efecto que producen es el de crear hipersensibilidad en el individuo, actuando como alérgenos. De esta manera, cada vez que se verifica la reacción entre ellas y la respuesta incontrolada y exagerada, se generan los sífilomas -vesículas rodeadas por costras secas concéntricas-, conocidos también como gomas, que al aparecer en la piel no provocan mayores consecuencias, pero al localizarse en ojos, aorta o SNC, suelen causar ceguera,

aneurisma o esclerosis de la médula espinal, respectivamente. Es precisamente este último trastorno el que genera las alteraciones más graves, se conoce como *Tabes dorsal* y corresponde a una parálisis generalizada muy dolorosa (1, 20).

El diagnóstico de la sífilis en el laboratorio depende de la etapa en la que se encuentra la enfermedad cuando, como suele suceder en nuestro medio, las únicas técnicas de las que se dispone son la observación en campo oscuro -durante la etapa primaria- y la prueba de VDRL -relativamente confiable sólo en la etapa secundaria-. No obstante, existen métodos tales como el de la inmovilización de *T. pallidum* (TPI), el de hemaglutinación indirecta (HAI) y, principalmente, el de microinmunofluorescencia indirecta (FTA-ABS), que son específicos para detectar esta enfermedad en cualquiera de sus etapas. Lógicamente, estos últimos son menos económicos que los antes mencionados, pero también más útiles y confiables (1, 5, 20, 37).

En cuanto a *G. vaginalis*, *Nobiluncus* sp y otras bacterias anaerobias -tales como *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* y *Peptococcus*-, se considera que, actuando conjuntamente, son los principales causantes de la vaginosis bacteriana, la cual se define como una enfermedad vaginal en la que no participan *T. vaginalis*, *N. gonorrhoeae* ni *C. albicans* y en la que la descarga de la paciente presenta 2 o más de las siguientes características (6, 10, 40, 43):

- a) pH mayor de 4.5.
- b) Olor penetrante a pescado, al adicionársele pequeñas cantidades de KOH al 10 %.
- c) Homogeneidad.
- d) Células "clave" o "gufa" -células epiteliales recubiertas por un gran número de bacilos pequeños-.

En relación a su diagnóstico en el laboratorio, además de los rasgos antes mencionados, debe intentarse el aislamiento de *G. vaginalis* y *Mobiluncus sp.*, con base en su capacidad para desarrollar en agar CNA (agar Columbia + Colistín + ácido nalidíxico) adicionado de 5 % de sangre. Cabe mencionar que este último componente funciona mejor cuando es de origen humano, en razón de que *G. vaginalis* sólo manifiesta hemólisis bajo estas condiciones y ello es muy importante para que no pase por desapercibida, ya que sus colonias de 48 a 72 h miden tan sólo 0.1 a 0.6 mm de diámetro. Sin embargo, en la actualidad resulta muy difícil acceder a la sangre humana, debido al control al que ésta se encuentra sometida a propósito del SIDA (1, 6, 8, 10, 20, 29, 31, 33, 34, 43, 40).

En general, los laboratorios que realizan la búsqueda microbiológica de los agentes causales prefieren intentar el aislamiento y la secuencial identificación de *G. vaginalis* que la de *Mobiluncus sp.*, puesto que la primera es facultativa, sus características microscópicas sólo son compartidas por el

género *Corynebacterium* -bacilos pleomórficos que se agrupan en palizadas, letras chinas o pares unidos por los extremos-, desarrolla sin obstáculos en presencia de 5 a 10 % de CO<sub>2</sub> y las pruebas que la diferencian de otros microorganismos presentes en las secreciones vaginales no son numerosas ni problemáticas (oxidasa -, catalasa -, manitol -, amilasa + e hipuricasa +). Lo antes señalado contrasta con lo requerido para detectar a *Mobiluncus sp* el cual, además de ser anaerobio estricto y desarrollar en anaerobiosis en aproximadamente 3 a 10 días, presenta una morfología microscópica similar a la de muchos otros bacilos Gram negativos y su identificación se basa en numerosas pruebas bioquímicas (CAMP, hipuricasa, producción de NH<sub>3</sub> a partir de arginina, fermentación de glucógeno y melobiosa, reducción de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y migración en agar blando), cuyos resultados difieren entre los principales microorganismos de este género: *M. curtisii subsp curtisii*, *M. curtisii subsp homelesii* y *M. mulieris* (1, 6, 10, 43).

De cualquier manera, es interesante recordar que el tratamiento de la vaginosis se basa en la administración oral de 500 mg de metronidazol, 2 veces diarias durante 7 a 10 días (10, 43, 40).

Por lo que hace a *Haemophilus ducreyi*, hasta hace 3 décadas esta especie estaba considerada como una de las 3 principales causantes de ETS, como consecuencia de su espectacular

diseminación después de la segunda guerra mundial. No obstante, en esta época no se ha detectado un número importante de casos, sino algunos aislamientos que continúan manteniéndola vigente. Se trata de un cocobacilo Gram negativo facultativo, auxótrofo para hemina (factor X), que desarrolla sin problemas en gelosa chocolate, previa incubación en presencia de 5 a 10 % de CO<sub>2</sub>, a 35°C, durante 48 a 72 h. Es no hemolítico, indol - y crece en ausencia de NAD<sup>+</sup> (factor V), lo cual lo diferencia de otras especies de su género; ocasiona la enfermedad conocida como chancroide o chancro blando, caracterizada por la presencia de vesículas ulcerativas dolorosas -de aproximadamente 2 cm de diámetro- en los genitales (1, 2, 4, 8).

Por su parte, *C. granulomatis* ocasiona el granuloma inguinal, también conocido como donovanosis. Esta ETS corresponde a una lesión ulcerogranulomatosa indolora, que involucra la piel y mucosas de los genitales, así como a los nódulos linfáticos inguinales, aunque también se ha observado en las zonas anales y orales. Su diagnóstico en el laboratorio se realiza a través de extendidos preparados a partir de los exudados, raspados con hisopo o biopsias, que se tiñen con colorante de Wright durante 2 minutos. Bajo estas condiciones, se buscan células mononucleares que muestran en su citoplasma los característicos bacilos de color azul o púrpura, rodeados por grandes cápsulas en rosa. Adicionalmente, pueden detectarse

los anticuerpos correspondientes en el suero del paciente, mediante reacciones de fijación del complemento (1).

#### El análisis microbiológico de los exudados genitales

De acuerdo a lo señalado anteriormente, cada laboratorio clínico diseña su propio protocolo, considerando sus recursos humanos y económicos, equipo, material, reactivos y medios de cultivo. Sin embargo, la gran mayoría tiene contemplado realizar lo siguiente:

##### 1) Recolectar 4 muestras (1, 19, 21, 22, 25, 39):

-Una para introducir el hisopo en un tubo con 1.5 a 2 ml de solución salina isotónica (SSI) a 37°C, y buscar en ella la presencia de *Trichomonas vaginalis*, colocando una gota en 1 o más portaobjetos y, sobre ella, un cubreobjetos, antes de revisarla con los objetivos 10X y 40X.

-Otra para preparar un frotis al Gram, rotando el hisopo sobre el portaobjetos y revisarlo a inmersión para investigar si existen neisserias intracelulares. Cabe señalar que, en caso de detectarse las estructuras correspondientes, esta preparación tendrá características más significativas si la muestra procede de un varón, ya que en la vagina se encuentran microorganismos de la flora habitual, incluyendo a *N. lactamicus*, que comparten su microscopía con el gonococo.



-La tercera, para llevar a cabo la siembra del MTM y la gelosa chocolate y buscar en dichos medios la presencia de gonococos.

-La última, para descargar el contenido del hisopo en placas de manitol-sal agar o alguno de sus equivalentes (S110, etc.), EMB o Mac Conkey y Biggy, y tratar de detectar en ellos la presencia de *S. aureus*, enterobacterias o *P. aeruginosa* y *C. albicans*, respectivamente.

Algunas de las consideraciones más importantes sobre la recolección de las muestras son (1, 8, 16, 17, 19, 23, 39, 44):

-La paciente no debe encontrarse bajo tratamiento antimicrobiano, dado que es posible que pequeñas cantidades de antibióticos -presentes en los especímenes- inhiban el desarrollo *in vitro* del agente etiológico.

-En afecciones tales como la gonorrea, debe muestrearse la zona endocervical, ya que en ésta se encuentra el microorganismo. Aunque *N. gonorrhoeae* también afecta la vagina, ésta contiene un gran número de integrantes de la flora habitual, los cuales pueden enmascarar el crecimiento de dicha especie en las placas de cultivo.

-El empleo del espejo vaginal resulta muy importante para

recolectar la muestra directamente de las zonas en las que se detectan las lesiones. No obstante, es conveniente que no se utilicen lubricantes que puedan interferir el desarrollo de los microorganismos.

-Los hisopos más adecuados son los de alginato de calcio, puesto que los de poliéster y, con mayor frecuencia los de algodón, manifiestan toxicidad para algunos agentes etiológicos.

-Cuando las muestras no son procesadas inmediatamente después de su recolección, es necesario preservar su representatividad y ello sólo se logra depositándolas en medios de transporte -tales como el Amies y el Stuart- y manteniéndolas a temperatura ambiente. La utilización de dichos medios se sustituye por el Transgrow, cuando se sospecha de gonorrea, en cuyo caso es mejor que permanezca a 35°C.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación apropiado para cada una de las placas sembradas, se busca la presencia de los microorganismos sospechosos que pueden desarrollar en ellas. Para ello, es necesario conocer sus características macroscópicas y apoyarse en las microscópicas, para confirmar lo que el analista había pensado y, al mismo tiempo, para analizar si dichas colonias son puras y, por lo tanto, útiles

para realizar las pruebas de identificación conducentes en cada caso.

Desafortunadamente, un número considerable de químicos de laboratorio desconoce a los microorganismos que debe buscar y/o las características macroscópicas que presentan, por lo cual recurre a reportar resultados negativos -ausencia de agentes significativos- o a realizar incontables frotis al Gram de cada placa, perdiendo eficacia y tiempo.

Por otra parte, es posible observar que agentes patógenos tales como *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus sp.*, *Treponema pallidum* y *Calymmatobacterium granulomatis*, no se pueden detectar mediante el protocolo descrito y, en consecuencia, ésto da lugar a numerosos falsos negativos, cuando no se complementa con otras técnicas y pruebas. En este sentido, es indispensable que el equipo de salud acceda a actualizarse y perfeccionarse periódicamente y que, desde luego, se establezca una mayor comunicación entre sus integrantes, ya que de nada serviría que el laboratorio trabajara de manera más completa -requiriendo más personal, tiempo, equipo, material y reactivos, por lo cual los costos de cada análisis se incrementarían notablemente-, si el médico continúa desconociendo el significado de otros agentes incluidos en el reporte correspondiente o las necesidades -en cuanto a gastos, tiempo y otras restricciones- de las pruebas que se deben incorporar.

## II. PARTE EXPERIMENTAL

### i. Equipo, material, reactivos y medios de cultivo

- Autoclave
- Balanzas analítica y granataria
- Campana de flujo laminar
- Espejo vaginal
- Incubadora ajustada a 35°C
- Microscopios estereoscópico y óptico
- Refrigerador (4°C)
- Abatelenguas
- Agitadores de vidrio
- Asas bacteriológicas
- Cajas Petri desechables
- Espátulas
- Hisopos estériles de algodón
- Matraces Erlenmeyer de 500 y 1,000 ml
- Mecheros Bunsen y Fisher
- Pipetas de 1, 5 y 10 ml
- Portaobjetos
- Probetas de 500 y 1,000 ml
- Tripié con tela de alambre
- Tubos de ensaye de 13 x 100 mm
- Aceite de inmersión

- Cloruro de sodio
- Colorantes y reactivos de Gram
- Hidróxido de sodio
- N,N p-aminobenzaldehído
- Peróxido de hidrógeno
- Plasma de conejo
- Sangre de carnero
- Suero humano
- Urea
- Agar Biggy
- Agar Citrato de Simmons
- Agar EMB
- Agar de hierro Kligler
- Agar sal manitol
- Agar SIM semisólido
- Agar tripticase-soya
- Caldo infusión cerebro corazón
- Caldo manitol rojo de fenol
- Caldo sacarosa rojo de fenol

## ii. Metodología

En este trabajo se realizaron 183 análisis microbiológicos de exudados genitales, correspondientes a igual número de mujeres en edad reproductiva con comprobados signos de inflamación en la mucosa cervicovaginal, que acudieron a consulta al Hospital Juárez de México, de la Secretaría de Salud.

Cabe subrayar que la cantidad de 183 estudios obedeció al hecho de que, precisamente en ese grupo de igual número de pacientes, no se detectaron especies tales como *T. vaginalis*, *N. gonorrhoeae* y *G. vaginalis*, de las cuales su patogenicidad resulta incuestionable en los genitales femeninos.

Los especímenes se obtuvieron frotando vagina y cérvix con hisopos de algodón y mediante el empleo de espejos vaginales, cuya inserción se llevó a cabo sin la utilización de lubricantes. Dichas muestras se descargaron posteriormente en placas de gelosa sangre, manitol sal agar, agar EMB, Biggy, y las pruebas de identificación se efectuaron previo período de incubación de 24 a 48 h, a una temperatura de 35°C, en condiciones de aerobiosis total.

#### Identificación de los microorganismos aislados

Las colonias de los microorganismos aislados se sometieron a diversas pruebas de identificación, de acuerdo a los siguientes criterios:

- Las que aparecieron en manitol sal agar se observaron a inmersión, previo frotis al Gram, para diferenciar a las estafilocócicas de las de *E. faecalis*, utilizándose adicionalmente la prueba de la catalasa para confirmar los hallazgos asociados a dicha discriminación primaria. En seguida, los estafilococos se sembraron en caldo manitol

rojo de fenol para obtener los cultivos líquidos y puros de 24 h, a partir de los cuales se realizó la prueba de la coagulasa.

-Las que desarrollaron en agar EMB se analizaron mediante frotis al Gram y, una vez que se comprobó que se trataba de bacilos cortos Gram negativos, se les efectuaron las pruebas de fermentación de glucosa, lactosa, manitol y sacarosa, así como las de producción de H<sub>2</sub>S, indol, gas, ureasa y la de utilización de citrato. Los medios empleados para estos fines fueron Kligler, Simmons, SIM, caldo manitol rojo de fenol y caldo sacarosa-urea.

-Las colonias café obtenidas en el Biggy se observaron con los objetivos seco débil y seco fuerte, con ayuda de lactofenol azul de algodón y, habiéndose demostrado la presencia de células levaduriformes, se estableció su pertenencia al género *Candida*. A continuación, se realizó la siembra de estos microorganismos en tubos que contenían pequeñas cantidades de suero humano y, previa incubación de 3 h a 35-37°C, se observaron microscópicamente buscando los clásicos tubos germinativos que caracterizan a *C. albicans* y la diferencian de otras especies del género que requieren de lapsos mayores para producir dichas estructuras.

Cabe mencionar que las placas de gelosa sangre terminaron fungiendo únicamente como apoyo.

### iii. Resultados

Considerando como origen de los resultados a las 183 muestras analizadas, puede señalarse que sólo en 68 (37.2 %) de ellas se detectó a alguno(s) de los microorganismos objeto del presente trabajo, cuyas frecuencias individuales fueron: *Escherichia coli*, en el 47.1 % de las pacientes "positivas"; *Candida albicans* en el 35.3 %; *Staphylococcus aureus* en el 11.8 %, *Enterobacter sp* en el 10.3 %; *Proteus mirabilis* en el 7.4 %, *Citrobacter freundii* en el 4.4 %; *Klebsiella pneumoniae* en el 2.9 % y *Morganella morganii* en el 1.5 %. La tabla 7 muestra esta información.

Tabla 7. Frecuencia de enterobacterias, *S. aureus* y *C. albicans* en muestras cervico-vaginales de 68 pacientes con vaginocervicitis.

MICROORGANISMOS	número de positivos	% del total
<i>Escherichia coli</i>	32	47.1
<i>Candida albicans</i>	24	35.3
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	11.8
<i>Enterobacter sp</i>	7	10.3
<i>Proteus mirabilis</i>	5	7.4
<i>Citrobacter freundii</i>	3	4.4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	2.9
<i>Morganella morganii</i>	1	1.5
T O T A L E S	82*	120.7*



CLAVE: \* = Las cifras rebasan al 68 y al 100 % debido a que en 12 muestras se detectaron 2 microorganismos de los señalados y, en una más, hasta 3 de ellos.

#### iv. Discusión

Tomando en cuenta que en las 183 muestras estudiadas, provenientes de otras tantas pacientes cuya afección se clasificó como "probable vaginitis inespecífica" (en virtud de que en análisis previos realizados por el personal del Hospital Juárez no se detectaron gonococos, tricomonas ni *G. vaginalis*, considerados agentes etiológicos incuestionables de la enfermedad), los resultados del presente trabajo proponen que en alrededor del 62.8 % de dicha clase de especímenes tampoco se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y/o alguna(s) enterobacteria(s) y que, por lo tanto, es muy grande el número de reportes sin diagnóstico probable que se generan, cuando el laboratorio no efectúa la búsqueda de otros microorganismos de difícil hallazgo, tales como *Chlamydia trachomatis* y *Treponema pallidum*.

Por otra parte, el hecho de que alguno de los microorganismos -objeto del presente trabajo- se haya encontrado en 68 pacientes con vagino-cervicitis inespecífica sugiere que, en algunos casos, aquéllos podrían participar como desencadenantes o agravadores de las patologías genitales en mujeres. Evidentemente, la mención de "en algunos casos"

deriva de la probabilidad de que, en algunos otros, los responsables sean *Chlamydia trachomatis*, *Calymmatobacterium granulomatis*, *Treponema pallidum* o diversos agentes virales.

Cabe destacar que *E. coli* se detectó en casi la mitad (47.1 %) del total de casos positivos, lo cual no sólo sugiere contaminación de origen fecal sino, principalmente, establece la necesidad de estudiar más a fondo la patogenicidad de dicho microorganismo en las mucosas genitales femeninas. Las frecuencias individuales del resto de las bacterias en cuestión son en general poco significativas, pero ello no descarta su eventual participación en los cuadros implicados.

Por lo que toca a *Candida albicans*, su incidencia en las muestras (35.3 %) se esperaba más elevada, dada la regularidad con que integra la flora vagino-cervical actual.

El hecho de que en 68 pacientes (37.2 %) se haya encontrado a alguna enterobacteria, *S. aureus* o *C. albicans*, refleja ampliamente la complicada problemática que enfrentan los equipos de salud en relación a la cervicitis y vaginitis inespecíficas.

Como se sabe, estas últimas se definen haciendo referencia a "procesos inflamatorios aparentes en el tracto genital inferior, en cuyas muestras sólo se detectan agentes microbianos que también colonizan las mucosas de vulva, vagina y/o cérvix de mujeres sanas".

Con respecto a las enterobacterias y a *S. aureus*, aún cuando exista la duda de su participación, quizá lo más conveniente sería reportarlas al médico y que éste instituyera el tratamiento correspondiente, porque si bien podría ser que en numerosos casos no fueran los responsables del cuadro patológico, la paciente podría adquirir nuevas afecciones debidas a ellas posteriormente, e inclusive, transmitirlos a sus parejas sexuales, ocasionándoles severas afecciones en los genitales.

En este sentido, si la mujer afectada utiliza tampones superabsorbentes durante su menstruación, *S. aureus* puede causarle el síndrome del shock tóxico -previa reproducción en la sangre menstrual atrapada en el canal vaginal-, padecimiento que pone en riesgo la vida, por efecto de las toxinas A y F, una vez que éstas ingresan al torrente circulatorio, a través de las trompas de Falopio o de pequeñas lesiones en las mucosas genitales. Adicionalmente, se sabe que las enterobacterias, principalmente *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Enterobacter sp.* figuran entre los más frecuentes agentes causales de infecciones urinarias.

Finalmente, en cuanto a *Candida albicans*, se sabe que esta especie ocasiona patologías genitales en la mujer pero, por otro lado, también destaca entre los miembros regulares de la flora habitual en vagina y cérvix. Al respecto, determinar su

erradicación puede resultar perjudicial para la persona -cuya flora perdería el equilibrio-, por lo cual deberían establecerse técnicas -quizá cuantitativas- que permitan diferenciar entre una presencia benéfica y su eventual participación como agente patógeno en los genitales.

## CONCLUSIONES

1. Los casos de vagino-cervicitis inespecíficas son muy numerosos pero, de la totalidad de ellos, las enterobacterias, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* podrían ocasionar alrededor del 37 %.
2. *Escherichia coli* se encuentra en casi la mitad de las muestras asociadas a vagino-cervicitis inespecífica, lo cual sugiere que debe profundizarse en estudios que puedan establecer o descartar su participación en estas patologías.
- 3...*Staphylococcus aureus* se detecta en 11.8 % de los especímenes relacionados con dicha enfermedad y, aunque su papel etiológico aún resulta cuestionable, su presencia en vagina y cérvix podría derivar en otros padecimientos tales como el síndrome del shock tóxico.
4. Cuando en las muestras cervico-vaginales patológicas no se detecta a microorganismos que actúan como agentes causales clásicos, el laboratorio debe reportar enterobacterias, *S. aureus* y *Candida albicans*, si alguno de ellos fue aislado e identificado.
5. La problemática de las vagino-cervicitis inespecíficas debe resolverse con estudios más detallados pero, principalmente, incrementando la comunicación entre el químico-clínico y el médico.

## BIBLIOGRAFIA

1. Balows A., Hausler W. J., Herrmann K. L., Isenberg H. D. and Shadomy H. J.:  
MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY  
American Society for Microbiology, 5th Edition  
Washington D.C., 1991.
2. Braude A.I.:  
MICROBIOLOGIA CLINICA  
Editorial Médica Panamericana  
Buenos Aires, 1984.
3. Dalet E.F., Segovia T.T. y Del Río P.G.: Papel de las adhesinas de *Escherichia coli* en la patogénesis de la infección urinaria; Rev Clin Esp, 1991; 189(1): 8- 13.
4. Davis B.D., Dulbecco R., Eisen H.N. and Ginsberg H.S.:  
MICROBIOLOGY  
J.B. Lippincott Company, 4th edition  
Philadelphia, 1990.
5. Dyckman J.D., Storms S. and Huber T.W.: Reactivity of microhemagglutination, fluorecent *Treponema* antibody absorption, and venereal disease research, J Clin Microbiol, 1993; 55(suppl): 1425-1525.

6. Emans S.J.: Significance of *Gardnerella vaginalis* in a prepuberal female, *Pediatr Infect Dis J*, 1991; 10(9): 709-710.
7. Fidalgo S., Vázquez F., Mendoza M. C., Pérez F. and Méndez F. J.: Bacteremia due to *Staphylococcus epidermidis*: microbiologic, epidemiologic, clinical, and prognostic features, *Rev Infect Dis*, 1990; 12(3): 520-528.
8. Finegold S.M. y Baron E.J.:  
DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO  
Editorial Médica Panamericana, 7a. edición  
Buenos Aires, 1989.
9. Freeman B. A.:  
MICROBIOLOGIA BURROWS.  
Editorial Interamericana.  
México, D.F., 1989.
10. Gardner H.L. and Dukes C.D.: *Haemophilus vaginalis* vaginitis: a newly defined specific infection previously classified "nonspecific" vaginitis, *Am J Obstet Gynecol*, 1990; 69: 962-976.
11. Garza V.R., García G.R., Peniche Q.E. y Guevara L.R.: Principales biogrupos y biotipos de *Serratia marcescens* en el ambiente hospitalario. *Infectología*, 1991; 9:473-478.

12. Garza V.R., Peniche Q.E. y Manero B.S.M.: La importancia clínica de *Chlamydia trachomatis*. *Lab-acta*, 1992; 4(2): 65-70.
13. Garza V.R., Peniche Q.E. y Manero B.S.M.: El diagnóstico de laboratorio de las enfermedades ocasionadas por *Chlamydia trachomatis*. *Lab-acta*, 1993; 5(1): 29-35.
14. Haley R. W.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: do we just have to live with it?, *Ann Intern Med*, 1994; 114(2): 162-164.
15. Herrmann M., Vaudaux P. E., Pittet D., Auckenthaler R., Lew P. D., Schumacher-Perdreau F., Peters G. and Waldvogel F. A.: Fibronectin, fibrinogen, and laminin act as mediators of adherence of clinical staphylococcus isolates to foreign material, *J Infect Dis*, 1993; 158(4): 693-701.
16. Hiller S.L. and Krohn M.A.: The relationship of hydrogen peroxide producing lactobacilli to bacterial vaginosis and genital microflora in pregnant women, *Obstet Gynecol*, 1992; 79(3): 369-373.
17. Holmes K.K., Counts G.W. and Beaty H.N.: Disseminated gonococcal infection, *Ann Intern Med*, 1991; 74: 979-993.
18. Jean D. Wilson., Braunwald E., Isselbacher K.J., Petersdorf R.G., Marthin J.B., Fanci A.S. y Root R.K.:



HARRISON, PRINCIPIOS DE MEDICINA INTERNA.

Editorial MacGraw Hill. 12a ed.

México D. F. 1993.

19. Joesuet M.R.: Reproducibility of scoring system from gram stain diagnosis of bacterial vaginosis, *J Clin Microbiol*, 1991; 29(8): 1730-1731.
20. Joklik W.K., Willett H.P., Amos D.B. y Wilfert C.M.:  
Zinsser Microbiología  
Editorial Médica Panamericana, 20a. edición  
Buenos Aires, 1994.
21. Kalo K.A. and Witkin S.S.: Regulation of the immune response to *Candida albicans* by monocytes and progesterone, *Am J Obstet Gynecol*, 1991; 164(5): 1351-1354.
22. King R.D., Lee J.C. and Morris A.L.: Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells, *Infect Immun*, 1980; 27: 667-674.
23. Klebanoff S.J., Hiller S.L., Eschenbach D.A. and Waltersdoph A.M.: Control of the microbial flora of the vagina by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generating Lactobacilli, *J Infect Dis*, 1991; 164(1): 94-100.
24. Koneman E.W., Allen S.D., Dowell V.R., Janda W.M., Sommers H.M. y Winn W.C.:

DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

25. Konje J.C., Otolorin E.O., Ogunniyi J.O., Obisesan K.A. and Ladipo O.A.: The prevalence of *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis* and *Candida albicans* in the cytology clinic of Ibadan Nigeria, *Afr J Med Sci*, 1991; 20(1): 29-34.
26. Lee J. C., Liu M. J., Parsonnet J. and Arbeit R. D.: Expression of type 8 capsular polysaccharide and production of toxic shock syndrome toxin-1 are associated among vaginal isolates of *Staphylococcus aureus*, *J Clin Microbiol*, 1990; 28(12): 2612-2615.
27. Lee N.C., Rubin G.L. and Grimes F.: Measures of sexual behavior and the risk of Pelvic Inflammatory Diseases, *Obstet and Gynecol*, 1991; 77(33): 425-430.
28. Legnani F.C., Zunino P., Algorta G. and Laborde H.F.: Antigenic and immunogenic activity of flagella and fimbria preparations from uropathogenic *Proteus mirabilis*, *Can J Microbiol*, 1991; 37(4): 325-328.
29. Mac Donald H.M., O'Loughlin J.A., Holley P., Vigneswaram R. and MacDonald P.J.: Vaginal infection and preterm labour, *Br J Obstet Gynecol*, 1991; 98(5): 427-435.
30. MacFaddin J.F.:

PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA LA IDENTIFICACION DE BACTERIAS DE  
IMPORTANCIA MEDICA

Editorial Médica Panamericana

Buenos Aires, 1990.

31. Majeroni B.A.: New concepts in bacterial vaginosis, Am Fam Physician, 1991; 44(4): 1215-1218.
32. Márdh P.A., Westpron L., Collen S. and Wolnerhanssen P.: Sampling, specimens handling and isolation techniques in the diagnosis of chlamydial and other genital infections, Sex Transm Dis, 1981; 8: 280-285.
33. Nagy E., Petterson M. and Madh P.A.: Anfibrosis between bacteria isolated from the vagina of women with and without signs of bacterial vaginosis, APMIS, 1991; 99(8): 739-744.
34. Oriel J.D.: Genital warts, Sex Transm Dis, 1981; 8: 326-329.
35. Peniche Q.E. y Garza V.R.: La importancia clínica de los estafilococos cóagulasa negativa y su identificación en el laboratorio, Lab-acta, 1993; 5(2): 77-82.
36. Peniche Q.E., Garza V.R. y Castellanos Ch.N.: La reacción pseudoinmune y su aplicación en el diagnóstico de laboratorio de los padecimientos ocasionados por *S. aureus*, Lab-acta, 1990; 2(4): 39-41.
37. Peter C.R., Thompson M.A. and Wilson D.L.: False - positive

- reactions in the rapid plasma reagins card, fluorescent treponemal antibody - absorbed, and hemagglutination Treponemal syphilis serology tests, *J Clin Microbiol*, 1979; 9: 369-372.
38. Ratner H. B. and Stratton C. W.: Thermonuclease test for same-day identification of *Staphylococcus aureus* in blood cultures, *J Clin Microbiol*, 1985; 21(6): 995-996.
39. Rotimi V.O., Yakubu Z., Abuju O.O. and Baujo T.O.: Direct Gram's stain of vaginal discharge as a means of diagnosis bacterial vaginosis, *J Med Microbiol*, 1991; 35(2): 103-106.
40. Salmon S.A., Walker R. D., Carleton C.L., Shah S. and Robinson B.E.: Characterization of *Gardnerella vaginalis* and *G. vaginalis* like organisms from the reproductive tract of women, *J Clin Microbiol*, 1991; 29(6): 1157-1161.
41. Sneath P. H. A., Mair N. S., Sharpe M. E., Holt J. G.:  
MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY, Volume 2  
Williams and Wilkins, 1st. Edition  
Baltimore, 1984.
42. Tarkkanen A.M., Allen B.L., Williams P.H., Kauppi M., Heahtela K., Siitonen A., Orskov I., Orskov F., Clegg S. and Korhonen T.K.: Fimbriation, capsulation, and iron scavenging system of *Klebsiella* strains associated with human urinary tract infection, *Infect Immun*, 1992; 60(3): 1187-1192.

43. Vontver L.A. and Eschenbach D.A.: The role of *Gardnerella vaginalis* in nonspecific vaginitis, Clin Obstet Gynecol, 1981; 24: 439-460.
44. Windall J.J., Hall M.M., Washington II J.A., Douglass T.J. and Weed L.A.: Inhibitory effects of vancomycin on *Neisseria gonorrhoeae* in Thayer Martin medium, J Infect Dis, 1980; 142: 775.