



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

“FRECUENCIA DE VAGINOSIS BACTERIANA EN
LA AMENAZA DE PARTO PRETÉRMINO
(APP)”

T E S I S

QUE PARA OBTENER ÉL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGA

P R E S E N T A :

ARACELI ZARAZÚA GONZÁLEZ

ASESORES: Q.F.I. ANDREA A. BÉCERRIL OSNAYA
Q.F.B. LUIS TOCA PORRAS

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
P R E S E N T E

ATN Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

" Frecuencia de Vacinosis Bacteriana en la Amenaza de Parto Pretérmino
(APP) "

que presenta la pasante: Zarazúa González Araceli
con numero de cuenta: 9361376-9 para obtener el TITULO de
Química Farmacéutica Biológica

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

ATENTAMENTE.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 3 de Diciembre de 1999.

PRESIDENTE QFI. Andrea A. Becerril Osnaya Andrea A. Becerril Osnaya

VOCAL MVZ. Gerardo Cruz Jiménez Gerardo Cruz Jiménez

SECRETARIO OFB. Idalia Avila Mivazawa Idalia Avila Mivazawa

PRIMER SUPLENTE Microbióloga Amparo Londoño Ordoñez Amparo Londoño Ordoñez

SEGUNDO SUPLENTE OFB. María Guadalupe Avilés Robles María Guadalupe Avilés Robles

A MIS PADRES POR EL APOYO QUE
ME HAN BRINDADO DURANTE
TODO EL PROCESO DE MI FORMACION
ACADÉMICA, ASÍ COMO A MIS
HERMANDOS, NORMA Y MIGUEL ÁNGEL.

A G R A C I A S

Para la realización de este trabajo se contó con la colaboración de las siguientes personas, sin ellas, no hubiese sido posible llevarlo a cabo.

Dra. Alejandra García Flores, Jefa del Laboratorio.

Dr. Manuel Matute.

Los Residentes:

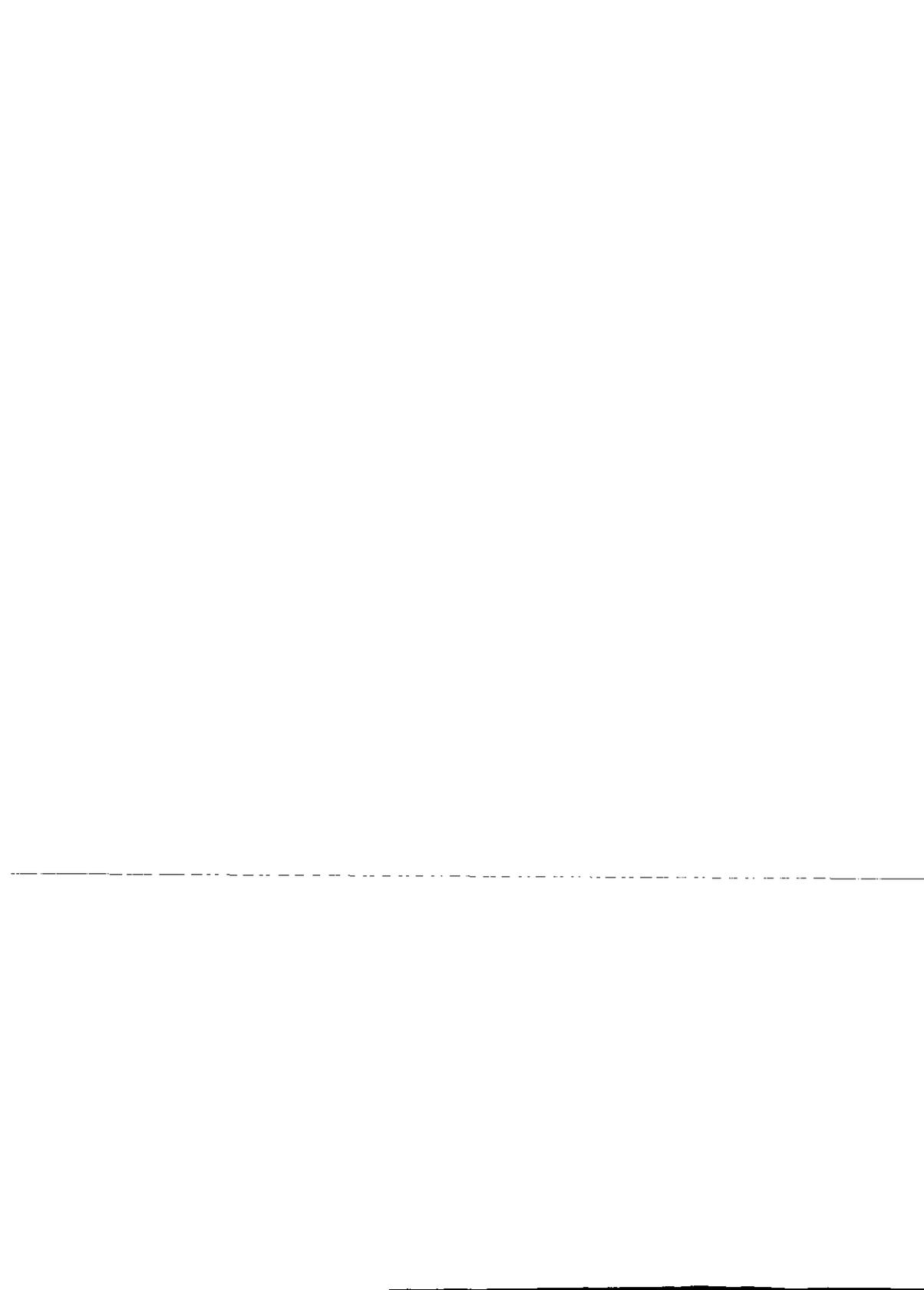
Dra. Mónica Araceli Sotelo Najera, Dra. Rosa Elicia Vega Medrano, Dra. Elvira Cecilia Hernández, Dr. Benito Bautista Alejo Flores, Dr. Jorge Jesús Curiel Ortiz, y la Dra. Gabriela Gutiérrez Colín.

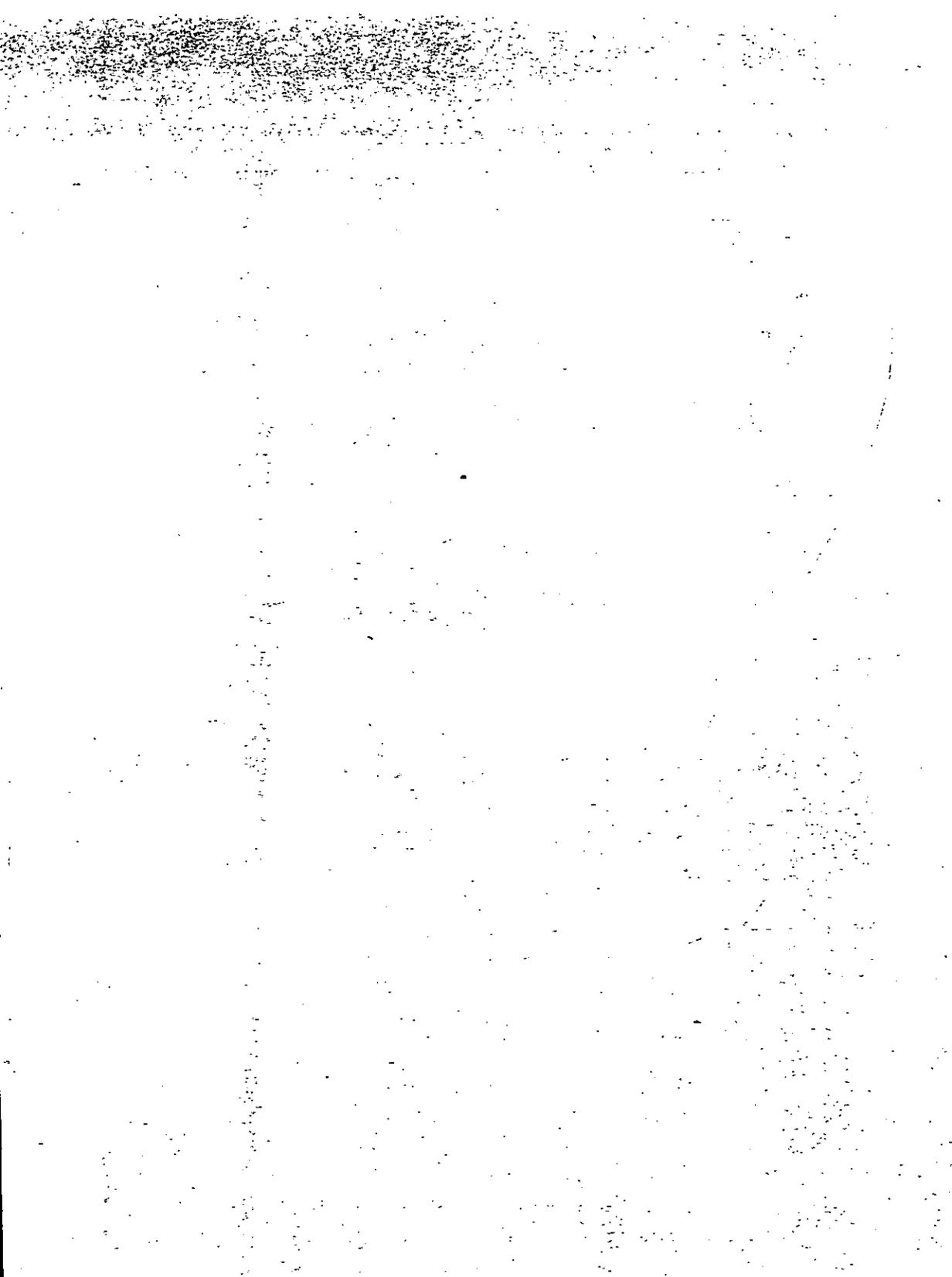
Luis Gerardo Torrijos Martínez, Patricia Jáuregui Guzmán, Lupita Samporio Abad, Verónica Moreno, Verónica Meneses Larico, Lourdes Godínez Pantoja, Julieta Cevallos Hernández, Laura Segura y Agustín Jiménez. Por haberme apoyado y brindado su amistad en el tiempo que llevo la elaboración del presente trabajo de tesis.

A MIS AMIGOS:

Mary Carmen Delfín Santisteban, Rosa María Hernández Martínez, Erika Ibarra López, Mónica Ortega Cruz, Carolina Remo González, Juan Carlos Hernández, Eduardo López Viduña, Ricardo Rodríguez. Gracias por apoyarme en todos los momentos que los necesite.

Agradecimiento en especial al Ing. Juan R. Saribay Bezmúdez del Depto de Matemáticas de la FES—C. Por su ayuda en el análisis estadístico, así como a la Profesora Andrea A. Becerra C. Por su apoyo y amistad.





ÍNDICE

	HOJA
I Abreviaturas.....	3
II Definiciones.....	5
III Índice de Tablas	7
IV Índice de Figuras.....	8
V Resumen.....	10
1.- Introducción.....	11
2.- Generalidades.....	15
2.1 Anatomía y Fisiología de la Vagina.....	16
2.2 Flora Normal y Patógena del Tracto Genital Femenino.....	18
3.- Hipótesis.....	20
4.- Objetivos.....	21
4.1 Objetivo General.....	21
4.2 Objetivos Particulares.....	21
5.- Material y Métodos.....	22
5.1 Material.....	22
5.1.1 Medios de Cultivo.....	22
5.1.2 Reactivos.....	23
5.2 Métodos.....	24
5.2.1 Análisis Bacteriológico.....	24

5.2.1.1 Examen microscópico Directo.....	25
5.2.1.2 Cultivo de las Muestras.....	25
5.2.1.3 Identificación de microorganismo.....	26
6.- Resultados.....	32
7.- Discusión.....	44
8.- Conclusiones.....	47
VI Apéndices.....	48
Apéndice A Composición y Preparación de los Medios de Cultivo	
Empleados.....	48
Apéndice B Pruebas Bioquímicas Utilizadas.....	53
Apéndice C Principales Características Bioquímicas de	
Enterobacterias.....	63
Apéndice D Características Generales de los Microorganismos	
Identificados.....	65
9.- Referencias.....	69

I ABREVIATURAS

ACh	Agar Chocolate
AMacC	Agar MacConkey
AS	Agar Sangre
ASM	Agar Sal y Manitol
APP	Amenaza de Parto Pretérmino
BHI	Infusión Cerebro Corazón
Cat.	Catalasa
°C	Grados Centígrados
FP	Flora Patógena
Frec.	Frecuencia
g.	Gramos
HGO. No. 3	Hospital de Gineco-obstetricia No. 3
Hr.	Horas
LIA	Agar de Hierro y Lisina
lb.	Libras
min.	minutos
MJO	Motilidad Indol Descarboxilación de Ornitina
mL	Mililitro

m.o.	Microorganismo
Ox.	Oxidasa
PP	Parto Pretérmino
SIM	Sulfuro, Inool, Motilidad
SSF	Solución Salina Fisiológica
Sp	Especies
SPO	Sin Patología Obstétrica

II. DEFINICIONES

APP: inicio de trabajo de parto antes de la 37ava semana de gestación manteniéndose las membranas intactas. ^(Artes)

Edema: acumulación excesiva de líquido seroalbuminoso en el tejido celular. La hinchazón producida se caracteriza por conservar la huella de la presión de dedo. ^(Dorland)

Endometritis: inflamación de la mucosa uterina. ^(Dorland)

Eritema: enrojecimiento difuso o en manchas de la piel, producido por la congestión de los capilares, que desaparece momentáneamente a la presión. ^(Dorland)

H₀: es la hipótesis que debe probarse, por lo común conocida como hipótesis nula. ^(Daniel)

H₁: es la hipótesis alternativa, con la que se compara la H₀.

Metrorragia: hemorragia por el útero independientemente del periodo menstrual. ^(Dorland)

Morbilidad o Morbilidad: número proporcional de personas que enferman en población y tiempo determinado. ^(Dorland)

Mortalidad: Número proporcional de defunciones en una población y tiempo determinado. Perinatal: número de muertes fetales antes de término. ^(Dorland)

Leucorrea: designa a cualquier secreción por la vagina, que puede consistir en secreciones fisiológicas o bien tener como etiología una infección y o una respuesta por irritación del epitelio vaginal.^(Villagas), alteraciones hormonales.

PP: Aquel parto que se produce antes de la semana 37, esto es, 259 días o menos desde el comienzo de la última regla.^(Borrell)

Preeclampsia: síndrome que se caracteriza por hipertensión arterial, edema ligero, el cual puede presentarse generalizado, convulsiones, y coma.

Vaginitis: inflamación de la mucosa vaginal.^(Dorland)

Vaginosis bacteriana: es un síndrome, resultado de las alteraciones en la flora bacteriana del tracto genital.^(Arredondo)

III ÍNDICE DE TABLAS

Hoja

Tabla 1: Los diferentes nombres de vaginosis bacteriana en el tiempo.....	11
Tabla 2: Presenta los aislamientos obtenidos al trabajar ambos grupos de pacientes.....	34
Tabla 3: Resultados agrupados para determinar la frecuencia de los patógenos.....	36
Tabla 4: Desglose de los datos de la tabla 3, cuando se presenta más de un Patógeno, en los aislamientos de SPO y APP.....	38
Tabla 5: Valores obtenidos y valores esperados para realizar el análisis estadístico.....	40

IV ÍNDICE DE FIGURAS

HOJA

Figura 1: Anatomía de los genitales externos femeninos.....	19
Figura 2: Metodología utilizada para el examen microscópico directo.....	25
Figura 3: Aislamiento de microorganismos aeróbicos, enterobacterias y <i>Staphylococcus sp.</i>	29
Figura 4: Diagrama de aislamiento para <i>Gardnerella vaginalis</i>	30
Figura 5: Aislamiento de <i>Candida albicans</i>	31
Figura 6: Gráfico de los aislamientos obtenidos de ambos grupos de Pacientes, con APP y SPO.....	35
Figura 7: Gráfico de los posibles resultados en forma agrupada para observar la tendencia de los resultados.....	37
Figura 8 Presentación de los resultados más representativos cuando existe el aislamiento de dos m.o. de una muestra.....	39
Figura 9 Representación de χ^2	43

**ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL HOSPITAL DE
GINECO OBSTERICIA No 3 DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL
"LA RAZA", EN EL LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y
CON LA COLABORACIÓN DEL SERVICIO DE
PERINATOLOGÍA.**

V RESUMEN

En el presente estudio se trabajó con una muestra de 134 pacientes que acudieron al servicio de Perinatología en el área de urgencias del H. G. O. No. 3 del Centro Médico Nacional La Raza. Un primer grupo sin patología obstétrica (84pacientes) y el segundo grupo con Amenaza de Parto Pretérmino (50pacientes). En el primer grupo de pacientes se encontró que el 55.9% presenta flora normal, el 11.9 de *Candida albicans*, el 9.78% *Escherichia coli*, el 4.75% de *Gardnerella vaginalis* y para *Klebsiella sp*, *Proteus sp* y *Staphylococcus aureus* se obtuvo 3.57% respectivamente.

En las pacientes de APP se obtuvo *Candida albicans* 32%, para *Escherichia coli* y *Gardnerella vaginalis* 26% cada una, *Staphylococcus aureus* 24% *Klebsiella sp*. 18%, *Proteus sp* 10% y flora normal 12%.

Observándose que la Amenaza de Parto Pretérmino se encuentra ligada a la presencia de patógenos de acuerdo al análisis bacteriológico de la secreción vaginal.

Por consiguiente es necesario que el médico tome en consideración si se observa alguna alteración, en la secreción vaginal, se realice un cultivo para tratar de evitar los nacimientos prematuros así como los abortos.

1- INTRODUCCIÓN

La vaginosis bacteriana es el problema vaginal más frecuente, llegandose a considerar como normal por algunas mujeres que no cuentan con la información suficiente.^(Arredondo III)

A través del tiempo la patología ha recibido diferentes nombres como se muestra en la tabla 1.^(Themansen)

El nombre actual de vaginosis bacteriana, fue propuesto por las características clínicas y microbiológicas de esta patología en Estocolmo, Suecia en 1984 por un grupo de expertos.^(Anas,Westom)

AÑO	NOMBRE	ETIOLOGÍA PROBABLE
1875	Vaginitis Inespecífica	<i>Streptococcus anaerobios</i>
1955	Vaginitis por <i>Haemophilus</i> .	<i>Haemophilus vaginalis</i>
1963	Vaginitis por <i>Corynebacterium</i> .	<i>Corynebacterium vaginalis</i>
1980	Vaginitis por <i>Gardnerella</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>
1984	Vaginitis Inespecífica	Polimicrobiana
1984	Vaginosis Bacteriana	Polimicrobiana

TABLA 1 DIFERENTES NOMBRES DE LA VAGINOSIS A TRAVES DEL TIEMPO.

El trabajo de parto Pretérmino es un problema importante asociado con un alto índice de morbilidad y mortalidad perinatal.^(Arias)

Algunos autores lo ubican entre el 10 y 12% del total de los nacimientos en el País, con una morbilidad global que oscila entre 25 y 50% y una morbilidad expresada principalmente en la esfera neurológica, que varía entre estos mismos porcentajes de acuerdo con las pruebas utilizadas por los investigadores para valorar el daño.^(Arredondo)

El Parto Pretérmino es la principal causa de mortalidad y morbilidad perinatal en Norte América y Europa.^(Janßen, Müller) En Alemania la mortalidad perinatal alcanza del 60 al 70% de los nacimientos con esta característica.^(Müller)

Prevenirlo es difícil e inefectivo por dos razones:

- 1.- La etiología es diferente de una población a otra.
- 2.- El mecanismo que desencadena el inicio de contracciones uterinas en APP se desconoce.^(Kurky)

Los factores tradicionales de riesgo para Parto Pretérmino (PP) han incluido: Embarazo múltiple, Preeclampsia, retardo en el crecimiento fetal, malformaciones, historia de PP previo e infecciones, sin embargo por medio de estos factores sólo es posible identificar el 20% de este tipo de partos.^(Kurky)

También intervienen en el PP, la ruptura prematura de membranas, anomalías uterinas, incompetencia cervical, placenta previa y metrorragias, antecedentes de aborto tardíos, enfermedades maternas, toxemia gravida principalmente.

El feto prematuro tiene dos tipos de complicaciones:

1.- El parto es traumático porque la osificación imperfecta no atenúa la compresión que el canal ejerce sobre el cuerpo fetal, por tanto son frecuentes las rupturas vasculares (principalmente en cerebro) y las contusiones viscerales.

2.- Al nacer el problema de la adaptación a una vida extrauterina a la que no está capacitado, su prematuro acarrea una frecuente patología: a) respiratoria (neumonías), b) digestivas (intolerancia a los alimentos) y c) inmunológicas (infecciones).

Estos problemas ocasionan, pese a los cuidados, una alta mortalidad neonatal.

La vaginosis bacteriana se asocia con un aumento en la frecuencia de interrupción del embarazo antes de la semana 22, así como un incremento de 3 a 4 veces la presentación de ruptura de membranas, parto Pretérmino y endometritis. A pesar de ser un padecimiento infeccioso y de transmisión sexual, no se encuentra en las enfermedades reportadas a la Dirección

General de Epidemiología, por lo que su frecuencia en la República Mexicana se desconoce.

El Hospital de Gineco-obstetricia No. 3 del Centro Médico Nacional "La Raza" atiende a pacientes embarazadas con factores de riesgo para PP e incluso pacientes con APP. Siendo la vaginosis bacteriana un factor de riesgo independiente para PP, el cual puede ser modificable, considerando necesario determinar la frecuencia de esta enfermedad en pacientes con APP y de esta manera disminuir la morbilidad por nacimientos prematuros, considerándose a éste como una base para determinar programas de salud en los cuales se apliquen medidas preventivas en la fase prepatógena de la enfermedad.

2 GENERALIDADES

Se ha demostrado que ciertos m.o. predisponen a PP, como son los *Streptococcus* del grupo B, Gonococos y *Chlamidya trachomatis*. Sin embargo en diversos estudios la vaginosis bacteriana es considerada un factor de riesgo independiente para PP,^(Gratacos, Meis) y se asocia con un incremento de 1.3 a 6.9 veces el riesgo de APP.^(Hilliar, Minkoff)

La vaginosis bacteriana por sus perfiles clínicos y microbiológicos, se le debe considerar como un síndrome y se caracteriza por alteraciones en la flora bacteriana.^(Arredondo III)

La etiología de la vaginosis bacteriana no esta dada únicamente por *Gardnerella vaginalis*, se encuentran involucrados otros microorganismos.^(Arredondo III)

El dato principal de las pacientes es la presencia de leucorrea fétida. El mal olor se detecta de manera importante después de las relaciones sexuales, aunque en la vaginosis bacteriana no se ven implicados procesos inflamatorios.^(Narcio)

El cuadro clínico característico se manifiesta, por la presencia de flujo transvaginal fétido abundante, homogéneo, por lo general sin inflamación. (Nishi) Gardner y Duker, reportan que las pacientes refieren al interrogatorio algunos síntomas como: prurito y ardor vulvar. (Gardner) A la exploración física se encuentra ligero eritema y/o edema vulvar y rara vez vaginal. (Paavonen)

2.1 ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DE LA VAGINA

La vagina humana es el órgano que cumple diferentes funciones como son: salida del flujo menstrual, recibir el pene en el coito y ser el canal del parto. (Paavonen, Shubiev) Es un conducto musculoso membranoso recubierto por mucosa, de aproximadamente 8 centímetros de longitud. (Quiroz) La vagina se encuentra entre la vejiga y el recto (figura 1) y es orientada en sentido posterior superior, comunicado en su extremo superior con el útero y la mucosa vaginal. En la unión de la vagina con el cuello uterino, se forma alrededor de este el saco de la vagina. (Paavonen, Quiroz)

La mucosa vaginal solo presenta las glándulas de Bartholin y Skene, localizadas en el introito y orificio uretral. (Paavonen, Quiroz)

La mucosa vaginal almacena glucógeno cuyo desdoblamiento origina la presencia de ácidos orgánicos. Estos ácidos confieren a la vagina un pH entre 3.5 y 4.5, lo cual hace lenta la reproducción microbiana, así como también para los espermatozoides. La función del líquido

seminal es neutralizar el pH para que de esta manera los espermatozoides sobrevivan en la vagina. ^(Paavonen)

La descarga vaginal presenta una mezcla formada principalmente por: secreciones de las glándulas de Bartholini y Skene, transudación a través de la pared vaginal, células epiteliales vaginales de descamación, moco cervical, fluido endometrial y leucocitos escasos. ^(Calderton, Schumacher)

Los constituyentes orgánicos en mayor proporción de la secreción vaginal son: proteínas, carbohidratos, urea y ácidos grasos. ^(Paavonen)

Las características de la secreción normal de la vagina son ^(Gonzalez)

- Color blanquecino mucoso.
- Cantidad variable
- pH < 5
- Leucocitos escasos.
- Bacilos Gram positivos (lactobacillus)
- Células epiteliales de descamación.

El moco cervical tiene actividad antibacteriana y contiene lisozima. ^(Jawetz)

2.2 FLORA NORMAL Y PATOGENA DEL TRACTO GENITAL FEMENINO.

La microflora que coloniza habitualmente al aparato genital de la mujer se circunscribe tan solo a tres sitios anatómicos, genitales externos, vagina y cuello uterino; las estructuras internas restantes son estériles. La flora bacteriana vaginal y del cuello uterino conforman un ecosistema y varía de un día a otro con el ciclo menstrual, el embarazo y la edad.^(Caceres) Cuando se altera este sistema, se facilita el crecimiento de bacterias aeróbicas y anaerobias.(por el cambio del pH éste se alcaliniza y es propicio para el desarrollo microbiano.)

La flora bacteriana de vagina esta formada por lactobacilos productores de H_2O_2 , los cuales generan ácido láctico por tanto el pH normal se encuentra entre 3.5 y 4.5.

Flora no patógena

-*Branhamella catarrhalis*

-*Neisseria flava*

-Bacilos coliformes

-*Bacillus subtilis*

- Difteroides
- Streptococcus no hemolítico
- Streptococcus faecalis (enterococos)
- Staphylococcus epidermidis
- Mycobacterium smegmatis.

La vaginosis bacteriana como ya se mencionó no solo se encuentra implicada *Gardnerella vaginalis*, también se asocian otros m.o. *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*, *Trichomonas vaginalis*. (Arredondo III)

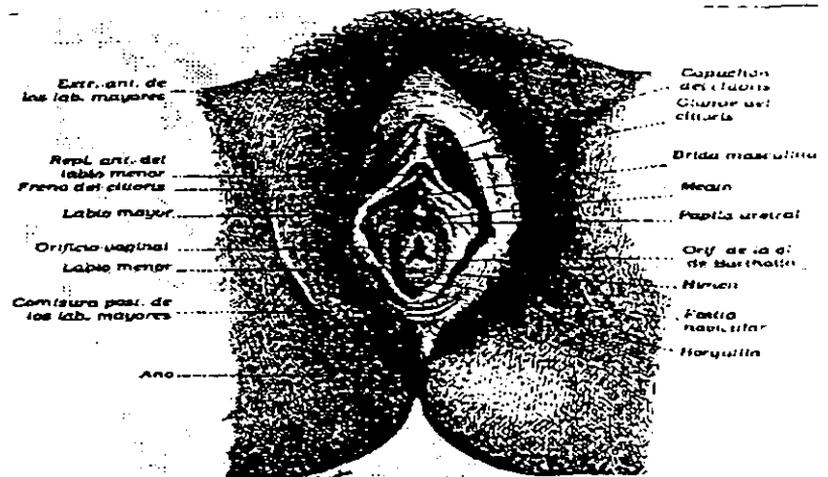


Figura 1: Anatomía externa de los genitales femeninos. (Tomada de QUIROZ).

3 HIPÓTESIS

La presencia de vaginosis bacteriana en
Mujeres embarazadas,
da origen a la
Amenaza de Parto Pretérmino (APP).

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar si existe relación entre la frecuencia de vaginosis bacteriana y la amenaza de parto Pretérmino, llevando a cabo el análisis bacteriológico de las secreciones vaginales.

4.1.1 Objetivos particulares

- 1) Aislar e identificar los microorganismos presentes en las secreciones vaginales de pacientes con amenaza de parto Pretérmino.
- 2) Aislar e identificar los microorganismos presentes en las secreciones vaginales de pacientes embarazadas sin patología diagnosticada.
- 3) Determinar la frecuencia de los microorganismos patógenos aislados de las pacientes con SPO y APP.
- 4) Verificar si existe relación entre la presencia de los microorganismos patógenos aislados y la APP.

5 MATERIAL Y METODOS

5.1 MATERIAL

- Guantes de látex estériles
- Gasa
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Hisopos estériles
- Gradillas
- Mecheros
- Asas bacteriológicas
- Estufa bacteriológica
- Microscopio óptico
- Tubos con tapón de rosca estériles.
- Pipetas Pasteur estériles.

5.1.1 Medios de Cultivo

Para el aislamiento se emplearon:

*En caja

Agar Sangre

Agar Chocolate

Agar MacConkey

Agar Sal y Manitol

Agar Biggy

*En tubo de ensaye

Agar Citrato de Simmons

Agar Hierro de Kligler

LIA

MIO

SIM

Caldo Malonato

Caldo BHI

SSF

Suero y plasma humano fresco, los cuales se obtienen de los pacientes que acuden al laboratorio del HGO No. 3.

5.1.2 Reactivos

Colorantes empleados en la tinción de Gram

*Solución de cristal violeta

*Lugol

*Alcohol-Acetona

*Solución de safranina

*KOH al 10% para realizar la prueba de liberación de aminas en las secreciones obtenidas.

Reactivos para realizar las siguientes pruebas:

*Catalasa: Peróxido de hidrógeno al 30%.

*Oxidasa: Tipibact N. N-N-N-N-Tetrametil-P-Fenilendiamina de 160.mcg.

*Indol: Reactivo de Kovacs

Alcohol

Aceite de inmersión.

5.2 MÉTODOS

Al llegar las pacientes al Servicio de Perinatología con APP o sin patología identificada pero con las membranas intactas, se les tomó una muestra de la secreción vaginal con dos hisopos estériles, para poder llevar a cabo el análisis bacteriológico, uno es colocado en BHI y el otro en SSF.

5.2.1. Análisis Bacteriológico

Con hisopos estériles se toman muestras dobles de la secreción vaginal. De estas muestras una es colocada en BHI y la otra en SSF.

Este análisis se lleva a cabo en dos partes. (Ver FIGURAS 2.a a 5

5.2.1.1. Examen microscópico en fresco

Preparado en fresco

Método de diagnóstico rápido para este tipo de muestra. Se pueden visualizar: trofozoitos de *Trichomonas vaginalis*, pseudomicetos de levaduras, células clave, leucocitos, bacterias, células de descamación, etc.

Prueba de KOH al 10%

Cumple dos funciones, mejorar la visualización de las levaduras al disolver las proteínas de las células de la secreción vaginal y el desarrollo del olor a aminas (pescado), asociado con la presencia de *Gardnerella vaginalis*.^(Narciso)

5.2.1.2 Cultivo de las muestras

Por las características de la muestra se sospecha con anticipación la flora bacteriana que puede aislarse, de esta manera se seleccionan los medios de cultivo adecuados a los requerimientos nutricionales para los m.o. que se puedan encontrar presentes.^(Davis)

Las condiciones requeridas para incubar los medios sembrados por la técnica de dilución son las siguientes ^{Genesee}

*Condiciones microaerofílicas: 35°C y 5% de dióxido de carbono por 24-48hrs. Para los medios de Ach y AS.

*Condiciones aeróbicas: 37°C por 24hrs. Para el ASM y AntacC

*Para el aislamiento de *Candida sp*: 26-37°C de 24-48hrs. Para el medio de Biggy.

5.2.1.3 Identificación de microorganismos

Observar la morfología colonial en los diferentes medios empleados en el aislamiento.

Llevar a cabo la tinción de Gram.

Realizar las pruebas bioquímicas necesarias dependiendo del m.o. del cual se sospeche

*Gram

*Catalasa

*Motilidad

*Oxidasa

*Producción de indol

*Producción de ácido sulfhídrico

*Empleo de los azúcares del agar Kigler

*Coagulasa

*Utilización del citrato

*Requerimiento del Malonato

*Descarboxilación de la ornitina y lisina

Para la identificación de *Gardnerella vaginalis*, Amse! y colaboradores¹¹ establecieron algunos criterios para efectuar el diagnóstico clínico sobre la base de las manifestaciones que las pacientes presentan:

1.- presencia de fluido transvaginal homogéneo grisáceo.

2.- prueba de liberación de aminas. Esta se lleva a cabo al mezclar la secreción con algunas gotas de KOH al 10% , por la alcalinización del medio se liberan aminas y ácidos originándose el olor a "pescado".

3.- pH de la secreción mayor a 4.5

4.- presencia de células guía en el examen en fresco. Estas se detectan diluyendo la secreción en SSF observar al microscopio a 40x

Thomason y colaboradores sugieren mediante un análisis estadístico detallado los criterios más relevantes: la presencia de células guía y el olor aminado, teniendo un valor predictivo del 99%.^(Narciso Thomanson)

FIGURA 2 METODOLOGÍA UTILIZADA PARA EL EXAMEN MICROSCOPICO DIRECTO.

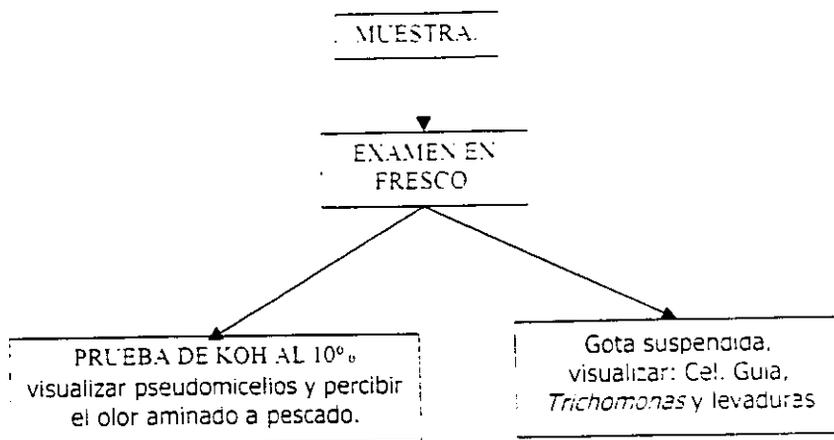


FIGURA 3 AISLAMIENTO DE m.o. AEROBIOS, ENTEROBACTERIAS Y *Staphylococcus*.

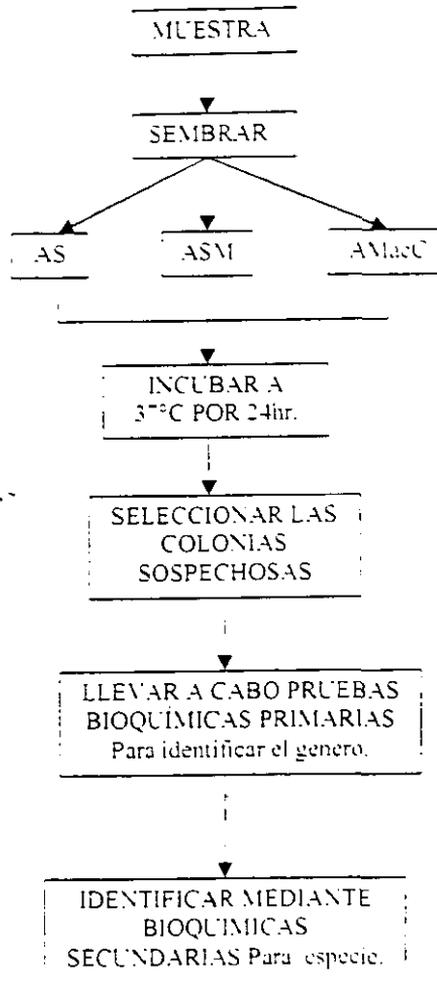


FIGURA 4 DIAGRAMA DE AISLAMIENTO DE *Gardnerella vaginalis*.

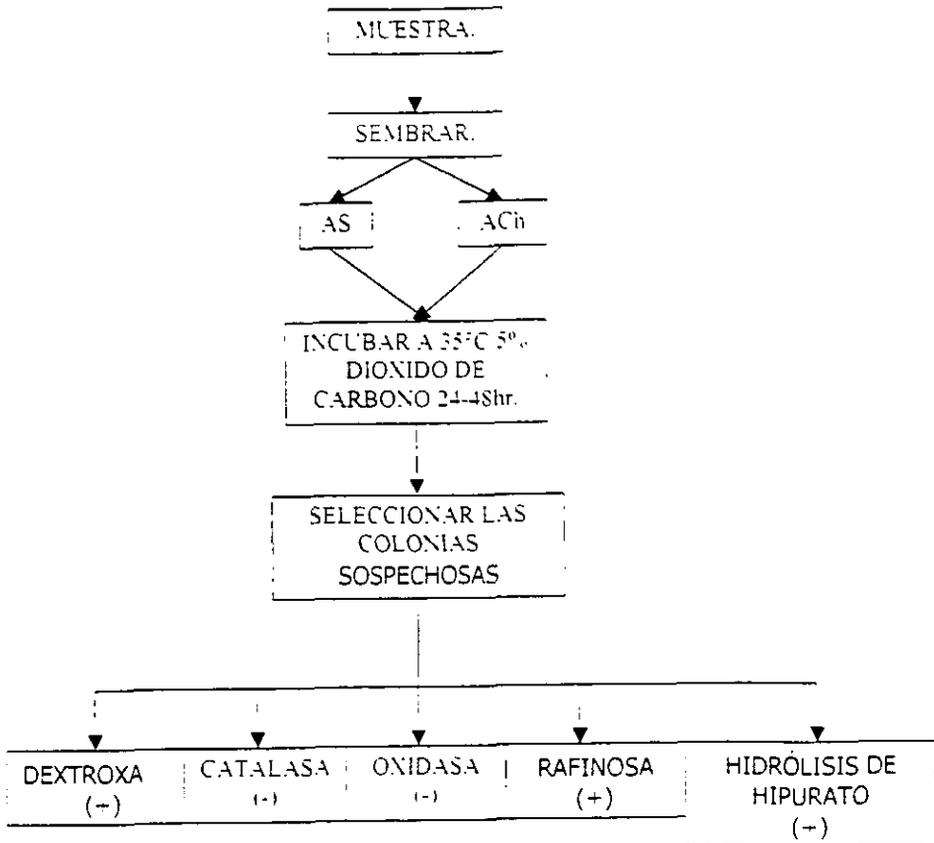
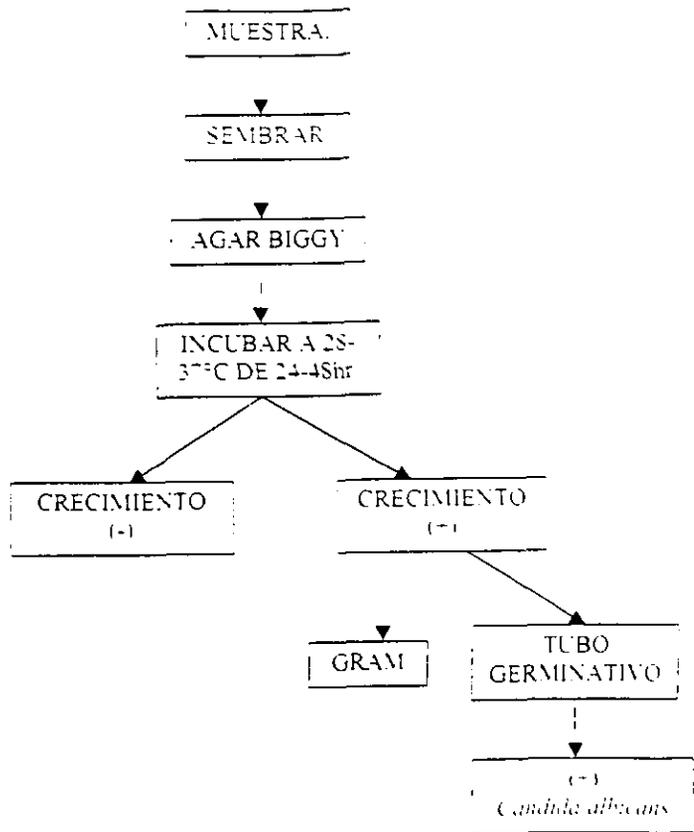


FIGURA 5 AISLAMIENTO DE *Candida albicans*.



6.RESULTADOS

La recolección de las muestras fue en el periodo comprendido de 15 de febrero de 1999 al 15 de agosto del mismo año. El grupo fue de 134 mujeres gestantes entre 26 y 36 semanas, las cuales se encontraban internadas en el Servicio de Perinatología del Hospital de Gineco-Obstetricia No. 3 del Centro Médico Nacional "La Raza"; a estas pacientes se les practicó el análisis bacteriológico de las secreciones vaginales.

El presente estudio se trabajó un total de 134 pacientes, las cuales se dividieron en dos grupos. El primer grupo pacientes sin Patología Obstetrica (SPO) y los otros pacientes con Amenaza de Parto Pretérmino (APP).

El grupo de muestras estuvo compuesto de 84 pacientes de SPO y 50 con APP.

Al realizar el análisis bacteriológico en 10 casos de SPO y en 37 muestras de APP, se obtuvo el aislamiento de dos o más microorganismos por lo que al reportar estos en la tabla 2 y al llevar acabo las sumatorias respectivas no coinciden con el número de muestras trabajadas. Estos resultados se muestran en el gráfico de la figura 6 para de está manera se puedan comparar los aislamientos obtenidos.

Para determinar como se encuentra la tendencia de los asamientos obtenidos se decidió agruparlos en: sin patógenos, un patógeno o mas de un patógeno, por la cual en las muestras con APP la tendencia es la presencia de mas de un patógeno obteniendo en el 74% del total de las muestras de este grupo, en tanto el grupo SPO, el rubro sin patógenos obtiene el 69.05% de las muestras. Esta tendencia se observa en la figura 7.

Para conocer la frecuencia en la que aparecen dos microorganismos a ver si existe alguna relación con la APP o simplemente no existe , (ver la tabla 4). Estos resultados se muestran en la figura 8.

Estas tendencias no son suficientes para llevar acabo una discusión validada por lo que se realizó un análisis estadístico, en este caso se aplicó una prueba de χ^2 (j_i^2). La cual se presenta en la tabla 4. Al llevar a cabo las operaciones estadísticas necesarias se obtiene la figura 9.

	SPO	APP	TOTAL
MICROORGANISMO			
<i>Escherichia coli</i>	8	19	27
<i>Gardnerella vaginalis</i>	4	13	17
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	12	15
<i>Klebsiella sp.</i>	3	9	12
<i>Proteus sp</i>	3	5	8
<i>Candida albicans</i>	10	16	26
OTROS	5	6	11
Flora Normal	47	6	53
Sin Desarrollo	5	0	5
TOTAL	88	86	174

Tabla 2 Aislamientos obtenidos al trabajar ambos grupos de pacientes.

SPO: SIN PATOLOGÍA OBSTETRICA.

APP: AMENAZA DE PARTO PRETÉRMINO.

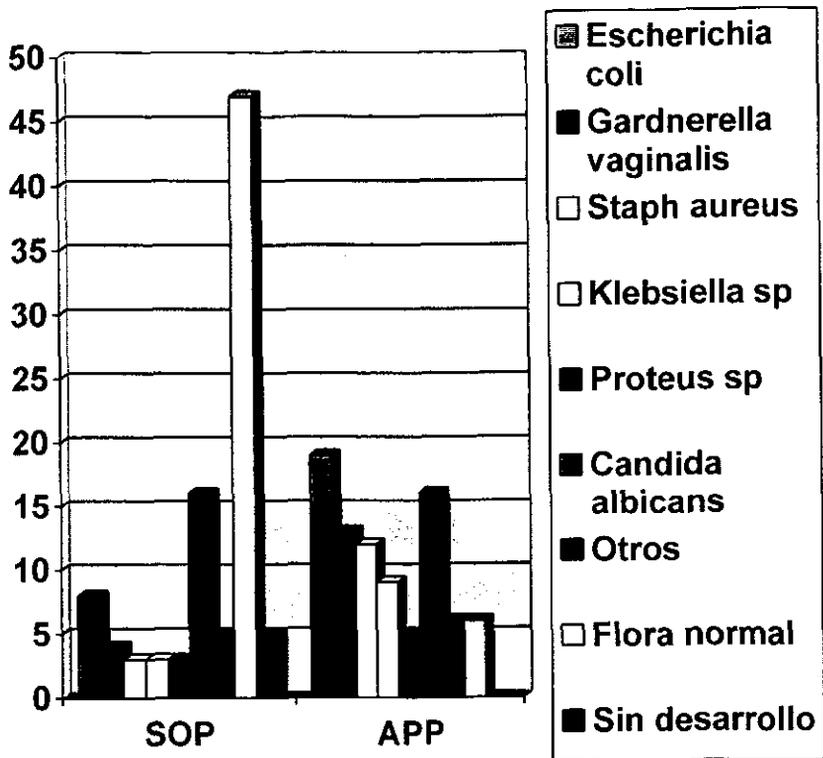


Figura 6 Aislamientos obtenidos al trabajar los dos grupos de pacientes, SPO y APP.

SPO: Sin Patología Obstétrica

APP: Amenaza de Parto Pretérmino.

RESULTADO	SPO	APP	TOTAL
Sin patógenos	58	6	64
	69.05%	12%	81.05%
Solo un patógeno	16	7	23
	19.05%	14%	33.05%
Más de un patógeno	10	37	47
	11.90%	74%	85.9%

Tabla 3 Resultados agrupados para determinar la frecuencia de los patógenos.

SPO: SIN PATOLOGÍA OBSTETRICA.

APP: AMENAZA DE PARTO PRETÉRMINO.

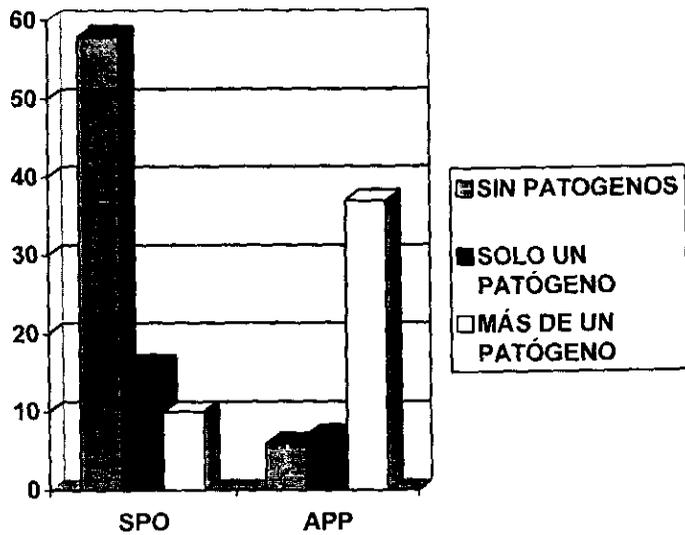


Figura 7 Resultados en forma agrupada para observar la tendencia de los aislamientos en las pacientes con SPO Y APP.

SPO: SIN PATOLOGÍA OBSTETRICA.

APP: AMENAZA DE PARTO PRETÉRMINO.

MICROORGANISMOS	SPO	APP
<i>E. coli</i> - <i>C. Albicans</i>	1	1
<i>E. coli</i> + <i>Staph aureus</i>	1	1
<i>E. coli</i> + <i>Klebsiella sp.</i>	0	1
<i>E coli</i> + <i>Proteus sp</i>	1	2
<i>E coli</i> + otros	0	1
<i>Staph aureus</i> - <i>C. Albicans</i>	1	3
<i>Staph aureus</i> + <i>Proteus sp</i>	0	1
<i>Staph aureus</i> + otros	0	2
<i>C. albicans</i> + <i>Klebsiella sp</i>	1	5
<i>C albicans</i> + <i>Proteus sp</i>	2	1
<i>C albicans</i> + otros	1	2
<i>Klebsiella sp</i> + <i>Proteus sp</i>	0	4
<i>Klebsiella sp</i> + otros	0	1
<i>Proteus sp.</i> + otros	0	2
<i>G. vaginalis</i> + <i>E. Coli</i>	0	6
<i>G. vaginalis</i> + <i>Klebsiella sp</i>	1	0
<i>G. vaginalis</i> + <i>C. Albicans</i>	0	1
<i>G. vaginalis</i> + otros	1	0
TOTAL	10	37

TABLA 4. Desglose de los datos de la tabla 3. cuando se presenta mas de un patogeno en los aislamientos.

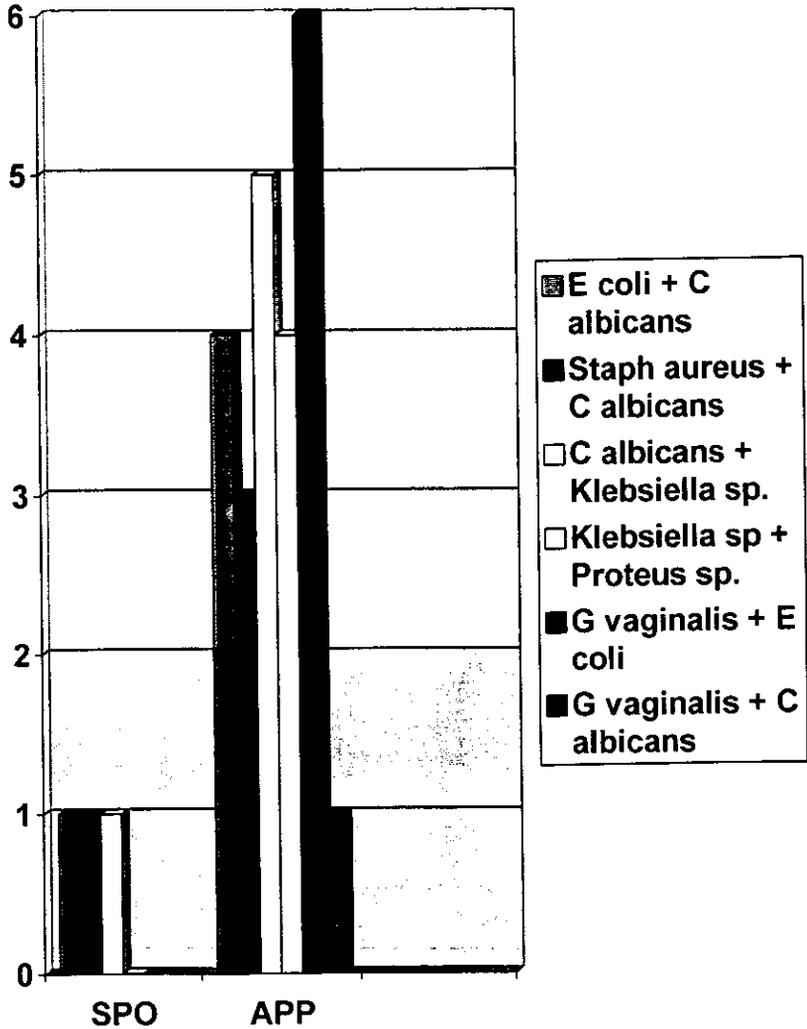


Figura 8. Presentación de los resultados más representativos cuando existe el aislamiento de dos m.o. de una muestra.

RESULTADO	SPO	APP	SUMA
SIN PATOGENOS	59	7	66
	(41.37)	(24.63)	
BACTERIAS	15	27	42
	(26.33)	(15.67)	
<i>Candida albicans</i>	10	16	26
	(16.30)	(9.70)	
TOTAL	84	50	134

Tabla 5 Valores de las σ_{ij} los valores obtenidos y los e_{ij} son los valores esperados.

σ_{ij} son los valores obtenidos experimentalmente.

e_{ij} son los valores teóricos esperados en el proceso de experimentación, donde este debe ser mayor o igual a 5. En la tabla se encuentran dentro del paréntesis.

Para obtener los e_{ij} se emplea la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned}
 e_{ij} &= (\sum r_i) (\sum c_j) / (\sum t) \\
 &= 66 \times 84 / 134 \\
 &= 41.37
 \end{aligned}$$

Para determinar χ^2 : (ji cuadrada de tablas), se debe considerar lo siguiente $\chi^2_{1-\alpha}$. α se escoge dependiendo de la validación que se desee dar al trabajo para que este quede perfectamente validado y pueda tener peso estadístico para ser tomado en cuenta para futuras investigaciones, en este caso se escogió $\alpha = 0.01 = 1\%$.

Los gl (grados de libertad) se obtienen como se muestra a continuación:

$$\begin{aligned} \text{gl} &= (r-1) (c-1) \\ &= (3-1) (2-1) \\ &= 2 \end{aligned}$$

Con estos datos ya se puede ir a las tablas para así conocer el valor de χ^2 .

En tanto la χ^2_c (ji cuadrada calculada) se calcula empleando la siguiente fórmula.

$$\chi^2_c = (\sigma_{ij} - e_{ij})^2 / e_{ij}$$

Los valores presentados en la tabla 4 se emplearon para llevar a cabo la prueba de hipótesis y tener los suficientes elementos para poder decir si se pueden cambiar las condiciones actuales, de no considerar a la vaginosis bacteriana dependiente en la amenaza de parto Pretérmino (APP).

Las hipótesis son:

H_0 : La presencia de APP es independiente a la presencia de vaginosis bacteriana.

H_1 : La presencia de APP es dependiente a la presencia de varicosis bacteriana.

La regla de decisión señala que se rechaza la hipótesis nula si el valor de la estadística de prueba que se calcule a partir de la muestra es uno de los valores de la región de rechazo y que se acepte la hipótesis nula si el valor calculado de la estadística de prueba es uno de los valores de la región de aceptación. (Daneš)

La regla de Decisión para este caso es:

Si $\chi^2_c < \chi^2_t$ entonces se acepta H_0 .

$$\chi^2_{(3, 0.99)} = \chi^2_t = 9.210$$

$$\chi^2_c = 39.73$$

Por tanto, $39.15 > 9.210$

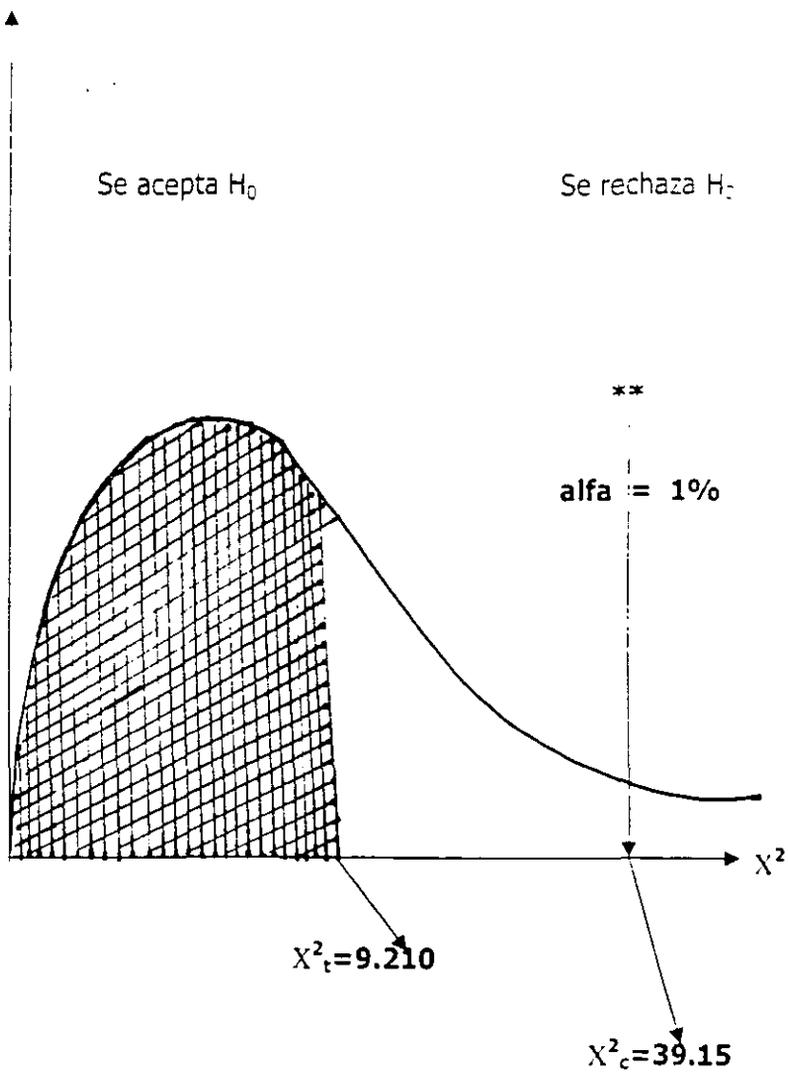


Figura 9 Representación de X^2 .

7.- DISCUSIÓN

*Un trabajo llevado a cabo por De la Cruz y cols.⁽²⁰¹³⁾, se observó que no existen diferencias significativas en relación con la edad de las pacientes y el resultado del análisis bacteriológico. Por tanto en este trabajo no se consideró a la edad como una variable

*Estudios previos han mostrado a la infección con una relación del 40% de los Partos Pretérmino (PP)^(Gibbs, Romero); sin embargo otros encuentran que la vaginosis bacteriana es un factor de riesgo independiente para la presencia de esta patología^(Gratacos, Mes)

*Al realizar el análisis bacteriológico de las muestras, se observó la presencia de microorganismos patógenos principalmente en las muestras de APP y poco o nulo en las muestras SPO.

*Como se observa en la tabla 2 y la figura 6, estos resultados nos indican que en el caso de SPO la presencia de flora normal la de mayor frecuencia con 47 ocasiones, en tanto que los m.o. en este mismo grupo no llegan a 5 aislamientos y

solo *Candida albicans* y *Escherichia coli* obtuvieron 10 y 8 casos respectivamente. En tanto que en el grupo de pacientes con APP *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis* y *Staphylococcus aureus* se obtuvieron 19, 16, 15 y 12 aislamientos respectivamente y solo en 6 pacientes se obtuvo flora normal.

*De acuerdo a estos resultados se presume que la presencia de m.o. patógenos si se encuentran relacionados con el síndrome APP.

*De las muestras con APP solamente el 12% tiene flora normal, la diferencia del 69.05% en las SPO.

*En las muestras SPO no llegan estos microorganismos ni al 10^3 de los aislamientos, obtenidos al realizarse el análisis bacteriológico.

*Al agruparlos como se muestra en la tabla 3 y figura 7, se observa que los aislamientos de 2 m.o. en APP tienen un 74% de incidencia por lo que nos hace pensar que la asociación de los microorganismos es importante para que se presente la APP.

*Para determinar si es o no necesaria esta asociación se realizó la tabla 4 y la figura 8, en donde observamos que *Gardnerella vaginalis* + *Escherichia coli* tienen 6 aislamientos, *Candida albicans* + *Klebsiella sp* 5 aislamientos y *Escherichia coli* + *Candida albicans*, *Klebsiella sp* + *Proteus sp* y *Staphylococcus aureus* + *Candida albicans* obtuvieron 3 aislamientos cada uno.

*Estos nos hace ver que la levadura se encuentra en la mayoría de los aislamientos donde se aíslan 2 microorganismos. Así como el 46.6% de los aislamientos de *Gardnerella vaginalis* están asociados con *Escherichia coli*.

*Como muestran algunos trabajos^(De la Cruz-González y Nardo-Sereno) se coincide en los microorganismos aislados: *Escherichia coli* (38%), *Candida albicans* (32%), *Gardnerella vaginalis* (26%) y *Staphylococcus aureus* (24%), en las muestras con APP.

*De acuerdo al análisis estadístico el valor de la X^2_c es mucho mayor que el teórico por lo que no se acepta H_0 . El teórico recordemos que lo calculamos para tener la referencia del valor hasta el cual es aceptada nuestra hipótesis H_1 , por consiguiente al obtener el valor de la X^2_c este nos da la pauta de rechazarla de acuerdo a los resultados experimentales obtenidos en la realización del presente trabajo.

*Es necesario mencionar, en los trabajos con los que se está comparando solo presentan los estudios de mujeres embarazadas o no embarazadas con vida sexual activa y no consideran como una variable la amenaza de parto pretérmino.

Cabe mencionar que se está comparando directamente con estudios realizados en México y no los extranjeros que tenemos en la referencia, esto para tener diferencias mínimas en las características generales de los grupos estudiados en todos los casos.

8.-CONCLUSIONES

-De acuerdo a los resultados, la presencia de microorganismos patógenos se encuentra relacionado con la incidencia de amenaza de parto pretermino.

-Los microorganismos presentes en las secreciones de las pacientes con APP y SPO son similares aunque son diferentes en los porcentajes de los aislamientos.

-La frecuencia de microorganismos patógenos en las muestras con APP fue: *Escherichia coli* 26%, *Candida albicans* 32%, *Gardnerella vaginalis* 26%, *Staphylococcus aureus* 24%, *Klebsiella sp.* 18% y *Proteus sp.* 10%.

-En el mismo orden de los microorganismos se tuvo 9.78%, 11.9%, 4.53%, 3.57%, 3.57% y 3.57%, para las muestras de SPO.

Por lo tanto y después del estudio estadístico podemos concluir lo siguiente:

La Amenaza de Parto Pretérmino es dependiente a la vaginosis bacteriana.

Es necesario que los médicos tomen en cuenta con seriedad los resultados que el laboratorio de Bacteriología reporte para poder evitar o disminuir la existencia de partos prematuros o la pérdida del producto .

V. APÉNDICES

APÉNDICE A. COMPOSICIÓN Y PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO^(Cowan)

AGAR. BIGGY

Útil para el aislamiento e identificación de *Candida sp.* por medio de la reacción de sulfuro.

Citrato α -amonio y bismuto	5g.
Sulfito de sodio	3g.
Dextrosa	10g.
Glicina	10g.
Extracto de levadura	1g.
Agar	16g.

pH final 6.8(\pm 0.2).

Suspender 45g del medio en un litro de agua. Calentar y hervir por no más de un minuto. Vaciar en tubos de 13x100.

AGAR CHOCOLATE

Infusión de músculo cardíaco	375g.
Peptona de carne	10g.
Agar	15g.
Cloruro de sodio	5g.
Sangre de carnero	50ml.

Suspender 40g del medio en un litro de agua y hervir durante un minuto. Esterilizar al 5 lb. de presión, 121°C por 15 min. Enfriar a 50°C y agregar 50 ml (50ml) de sangre de carnero desfibrinada estéril, mezclar y calentar en baño maría a 65-80°C hasta que el medio adquiera un color chocolate. Vaciar en cajas petri.

AGAR MacCONKEY

Se usa para enterobacterias. La inhibición de los Gram positivos se debe a la mezcla de sales biliares.

Peptona de gelatina	
Mezcla de peptonas	3g.
Lactosa	10g.
Mezcla de sales biliares	1.5g.
Cloruro de sodio	5g.
Agar	13.5g.

Rojo neutro	0.030g.
Cristal violeta	0.001g.

Suspender 50g del medio en un litro de agua destilada, calentar y hervir por un minuto. Esterilizar a 121°C, 15 min. a 15 lb. de presión. Vaciar en cajas petri.

AGAR MUELLER HINTON

Infusión de carne de res	300.0g.
Pectona de caseína ácida	15.5g.
Almidón	1.5g.
Agar	17.0g.

pH final 7.4(±0.2)

Suspender 38g. Del medio deshidratado en un litro de agua destilada y hervir por un min. Esterilizar a 121°C durante 15 min. y 15 lb. de presión. Vaciar en cajas petri.

AGAR SAL Y MANITOL

Se utiliza para aislar *Staphylococcus sp.*

Extracto de carne	1.000g.
Mezcla de peptonas	10.000g.
Cloruro de sodio	75.000g.
D-manitol	10.000g.
Agar	15.000g.
Rojo de fenol	0.025g.

pH final 7.4(\pm 0.2)

Suspender 111g del medio deshidratado en un litro de agua. Calentar y hervir por un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. a 15 lb. de presión Vaciar en cajas petri.

AGAR SANGRE DE CARNERO

Mezcla de peptonas	10g.
Extracto de carne	3g.
Cloruro de sodio	5g.
Agar	15g.

pH final (\pm 0.2)

Rehidratar 33g del medio en un litro de agua destilada. Luego calentar agitando frecuentemente y dejarlo hervir por un minuto. Esterilizar a 121°C durante 15 min. a 15 lb. de presión. Después enfriar a 45-50°C y añadir 50 ml de sangre de carnero desfibrinada y estéril. Vaciar en cajas petri.

CALDO INFUSIÓN CEREBRO CORAZÓN (BHI)

Infusión de cerebro de ternera	200.0g.
Infusión de corazón de res	250.0g.
Peptona de gelatina	10.0g.
Dextrosa	2.0g.
Cloruro de sodio	5.0g.
Fosfato disódico	2.5g.

pH final 7.4 (± 0.2).

Resuspender 37g del medio deshidratado en un litro de agua destilada y calentar. Se esteriliza a 121°C por 15 min. a 15 lb. de presión. Vaciar en tubos de ensaye de 13x100.

APÉNDICE B. PRUEBAS BIOQUÍMICAS EMPLEADAS^(Cowan)

AGAR CITRATOS DE SIMMONS

Fosfato diácido de amonio	1.00g.
Fosfato dipotásico	1.00g.
Cloruro de sodio	5.00g.
Citrato de sodio	2.00g.
Agar	15.00g.
Sulfato de magnesio	0.20g.
Azul de bromotimol	0.08g.

pH final 6.9.

Disolver los sólidos en un litro de agua y calentar. Vaciar en tubos de 13x100 y esterilizar. Inclinar los tubos para formar el pico de flauta.

Fundamento: sirve para ver si el m.o. puede utilizar el citrato como fuente de carbono y al amonio como fuente de nitrógeno. Las bacterias que utilizan el citrato también extraen al nitrógeno de la sal de amonio, con producción de amoniaco y luego formación de hidróxido de amonio, que es alcalino. El azul de bromotimol es azul a pH mayor de 7.6.

Interpretación: prueba positiva si el medio es de color azul. Prueba negativa si el medio es de color verde.

MALONATO

Extracto de levadura	1.000g.
Sulfato de amonio	2.000g.
Fosfato de potasio	0.600g.
Cloruro de sodio	2.000g.
Malonato de sodio	3.000g.
Dextrosa	0.250g.
Azul de bromotimol	0.025g.

pH 6.7.

Después de pesar exactamente los ingredientes rehidratar con un litro de agua destilada o desmineralizada. Calentar suavemente hasta disolución. Distribuir en tubos de 13x100 con aproximadamente 3 ml. Por tubo.

Fundamento: determina la capacidad del m.o. para utilizar el malonato de sodio como única fuente de carbono, con la consiguiente alcalinidad. Ácido, color amarillo y pH de 6; alcalino, azul de prusia intenso y pH de 7.6.

Interpretación: a) prueba positiva color azul de prusia intenso en todo el medio.
B) prueba negativa no se observa cambio de color (verde o amarillo), lo que significa que sólo fermentó la glucosa.

AGAR HIERRO DE KLIGLER

Extracto de carne	3.000g.
Extracto de levadura	3.000g.
Peptona	15.000g.
Proteosa peptona	5.000g.
Lactosa	10.000g.
Glucosa	1.000g.
Sulfato ferroso	0.200g.
Cloruro de sodio	5.000g.
Tiosulfato de sodio	0.300g.
Agar	12.000g.
Rojo de fenol	0.024g.

Mezclar 52g de medio en un litro de agua destilada, hervir por un minuto, vaciar en tubos 13x100, esterilizar y enfriar en forma inclinada.

Fundamento: el medio contiene lactosa y glucosa. Las bacterias pueden fermentar la lactosa, la glucosa, a ambas o ninguno de los dos carbohidratos. Los carbohidratos fermentado producirán ácidos mixtos que son capaces de hacer virar el color del medio (debido al indicador). El medio contiene además sulfato ferroso que al contacto con el ácido sulfhídrico que algunas bacterias producen, se oxida produciendo un color negro en el medio.

Interpretación: medio color negro ácido sulfhídrico positivo.

Pico rojo (alcalino) / fondo rojo (alcalino) No hay fermentación de azúcares

Pico alcalino / fondo ácido (amarillo) glucosa fermentada y lactosa no fermentada.

Pico ácido / fondo ácido glucosa y lactosa fermentadas.

L. I. A. (AGAR DE HIERRO Y LISINA)

Peptona de gelatina	5.00g.
Extracto de levadura	3.00g.
Dextrosa	1.00g.
L-lisina	10.00g.
Citrato de amonio férrico	0.50g.
Tiosulfato de sodio	0-04g.
Púrpura de bromocresol	0.02g.
Agar	13.50g.

pH final 6.7

Suspender 33g del medio en un litro de agua destilada. Calentar y hervir durante un minuto. Distribuir en tubos de 13x100 y esterilizar. Enfriar en posición inclinada.

Fundamento: el tiosulfato de sodio es utilizado por las bacterias produciendo ácido sulfhídrico que reacciona con el hierro dando una coloración negra.

El medio contiene también lisina y glucosa; las bacterias primero acidifican el medio, al utilizar la glucosa y posteriormente alcalinizan (color púrpura original) debido a que la lisina es descarboxilada con formación de cadaverina que es una amina alcalina.

Interpretación: tubo sin inocular color púrpura. Tubo color amarillo la bacteria es viable pero no hay descarboxilación de la lisina. Tubo con color amarillo y púrpura indica que está llevando a cabo la descarboxilación.

M. I. O. (MOTILIDAD, INDOL Y DESCARBOXILACIÓN DE LA ORNITINA).

Extracto de levadura	3.00g.
Peptona de gelatina	10.00g.
Peptona de caseína	10.00g.
L-ornitina	5.00g.
Dextrosa	1.00g.
Agar	2.00g.
Púrpura de bromocresol	0.02g.

pH final 6.5

Disolver 31g del medio en un litro de agua destilada, remojar y calentar a ebullición. Distribuir en tubos y esterilizar.

Fundamento: para la motilidad el medio contiene una concentración baja de agar (medio semisólido) lo que va a permitir ver la difusión de las bacterias partiendo del sitio de incubación. La movilidad de las bacterias se debe a la presencia de flagelos.

Para el indol, el medio contiene triptófano y si la bacteria contiene la enzima triptofanasa, lo va a metabolizar primero a indol y finalmente a ácido pirúvico y amoníaco, al agregar el reactivo de Kovacs o Ehrlich va a reaccionar dando un color rojo violáceo.

En la descarboxilación de la ornitina el principio es el mismo que para lisina, solo que la ornitina es transformada a putrescina.

Interpretación: turbiedad del medio o crecimiento extendido a partir de la línea de inoculación indica movilidad positiva.

Color púrpura en el medio indica descarboxilación de ornitina positiva.

Color amarillo indica una descarboxilación negativa.

Aparición de anillo rojo al agregar el reactivo de Kovac es una reacción indol positiva.

S. I. M (ÁCIDO SULFHÍDRICO, INDOL Y MOTILIDAD)

Peptona de caseína	20.0g.
Peptona de carne	6.1g.
Sulfato de hierro y amonio	0.2g.
Tiosulfato de sodio	0.2g.
Agar	3.5g.

pH final 7.3.

30g del medio se disuelven en un litro de agua destilada, hervir por un minuto. Vaciar en tubos 13x100. Enfriar en posición vertical.

Fundamento e interpretación: para la motilidad e indol es el mismo al descrito en MIO.

Para el ácido sulfhídrico es el que se describe en LIA.

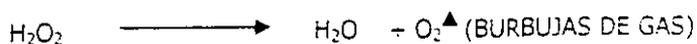
CATALASA

Reactivo: peróxido de hidrógeno al 3% (Superoxal).

Método: con un palito de madera recoger algunas colonias puras de 18-24 hr. y colocar sobre un portaobjetos limpio. Cuidar de no aplicar la prueba si el agar sangre es introducido en el peróxido. Agregar una gota de peróxido al 30% sobre

el organismo del portaobjetos. Usar un palillo, gotero o pipeta Pasteur para mezclar. No invertir el método ni mezclar con el asa bacteriológica. Desecnar el portaobjetos poniéndolo en un recipiente con desinfectante.

Fundamento: el peróxido de hidrógeno se forma como uno de los productos finales del metabolismo oxidativo aeróbico de los carbohidratos. Si se deja acumular, el peróxido es letal para las bacterias. La catalasa es una enzima que poseen algunas bacterias y actúa de la siguiente manera:



Interpretación: presencia de burbujas al agregar el peróxido de hidrógeno a la colonia en un portaobjetos indica catalasa positiva.

OXIDASA

Reactivo de Kovacs: diclorhidrato de tetrametil-P-fenilendiamina al 1%.

-Se disuelve 1g del reactivo en menos de 100ml de agua destilada, calentar suavemente hasta disolución. Aforar a 100ml, dejar reposar 15 min. guardar en frasco de vidrio ámbar tapado. Evitar la innecesaria exposición a la luz.

Método: colocar un trozo de papel filtro (de 6cm cuadrados) Wattman No.1 en una caja petri. Agregar 2-34 gotas de reactivo en el centro del papel. Hacer un extendido de colonias puras con un palillo. La reacción positiva se produce de 5-10 segundos.

Fundamento: los citocromos son hemoproteínas que contiene hierro , actúan como el último eslabón de la cadena respiratorio aeróbica, transfiriendo electrones (hidrógeno) al oxígeno, con formación de agua.

En la prueba citocromo oxidas se utilizan ciertos reactivos colorantes como aceptores artificiales de electrones sustituyendo al oxígeno. Un ejemplo de estos es el diclorohidrato de p-fenilendiamina,N,N-dimetil-fenilendiamina: el reactivo es incoloro en estado oxidado y color rojo o rosa fuerte en estado reducido.

Interpretación: las colonias bacterianas con actividad de citocromo oxidasa desarrollen en segundos un intenso color rosa (o rojo) en el sitio de la inoculación. El color desarrollado depende del tipo de reactivo que se emplee.

COAGULASA

Reactivo: plasma humano o de conejo. Como alternativa: plasma de caballo, carnero o bovino.

Método para realizar la prueba en tubo de ensaye.:

A un tubo de ensaye 13x100 esterilizado se agrega 0.5 ml de plasma no diluido, 0.5 ml de un cultivo en caldo puro de 18-24 hr., o agregar con el asa una buena cantidad de una colonia pura de una placa de agar. Girar el tubo suavemente para lograr la suspensión del m.o. (no agitar). Incubar a 37°C por

24hr y observar cada 30 min. si se produce la coagulación. Si al cabo de 4 hr no hay coagulo visible, dejar incubar hasta el día siguiente.

Fundamento: la coagulasa es una enzima proteica que es capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina, provocando la formación de un coagulo visible. La coagulasa se encuentra presente en dos formas, una "libre" y otra "fija". La fija esta unida a la pared celular de las bacterias. La coagulasa libre es una sustancia semejante a la trombina y al mezclarse suero con coagulasa libre se forma el coagulo similar a cuando se añade trombina.

Interpretación. La coagulasa fija hilos de fibrina unidos a las células bacterianas suspendidas en el plasma provocando aglutinación y presencia de agregados visibles en el tubo.

PRUEBA DEL TUBO GERMINATIVO

Se toma una colonia aislada del medio Biggy y se suspende en un tubo que contenga 0.5 ml de suero humano o de borrego. Se incuba a 37°C por no más de tres horas y se observa al microscopio con el objetivo seco fuerte para identificar a las levaduras con un apéndice largo del tamaño dos a tres veces la célula levaduriforme.

Candida albicans es positiva a esta prueba después de dos horas de incubación.

APÉNDICE C PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE ENTEROBACTERIAS^(Davis)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Beta galactosidasa	-	-	-	D	d	-	-	-	-	-	-
Gas de glucosa	-	+	+	-	-	d	-	-	d	D	-
CARBOHIDRATOS											
(ÁCIDO DE)											
Adonitol	-	-	-	-	-	d	+	-	d	D	D
Arabinosa	+	-	+	+		+	+	+	-	-	-
Dulcitol	d	-	d	D	d	d	-	-	-	-	-
Esculina	d	-	d	-			D	-	-	d	D
Inositol	-	-	-	d	-	+	D	-	d	D	-
Lactosa	+ox	-	+ox	D	D	D	-	-	-	-	-
Manitol	+	-	+	+	D	+	+	+	+	D	+
Sacarosa	d	-	d	-	D	+	+	-ox	+	D	D
Trealosa	+	-	+	+	+	+	+	+	+	d	+
Xilosa	d	-	+	+	D	+	+	+	d	D	D
FUENTES DE C.											
RELACIONADAS											
Malonato	-	-	+	-	-	d	+	+	+		-
Gluconato	-	-		-	d	+	+	+	+		-
Citrato	-	-	d	D	-	D	+		-		-
d-Tartato	d	-	+	D		d	-	-			D
M.R.	+	+	+	+	+	D	-	-	-	+	+

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
V.P.	-	-	-	-	-	D	-	+	D	d	-
REACCIONES											
PROTEÍCAS											
ARGININA	d	-	d	-	-	-	D	-	-	-	-
Hidrolisis de gelatina	-	-	-	D	-	d	-	-	-	D	-
Ácido sulfhídrico	-	+	D	+	-	-	-	-	-	D	D
Indol	+	+	D	-	D	d	-	-	-	D	D
Lisina	+	+	-	+	-	d	D	+	-	d	-
Ornitina	d	+	d	+	d	-	-	+	-	D	D
Urea hidrolizada	-	-	+	-	-	d	d	-	-	D	D
Ácido glutámico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Catalasa: todas son positivas, excepto *Shigella* es D.

Oxidasa: todas son negativas.

Reducción de nitratos: todas son positivas.

Maltosa: todas son positivas, excepto *Proteus* es D.

Fenilalanina: todas son negativas, excepto *Proteus* es +.

1.- *Escherichia*

5.- *Shigella*

9.- *Serratia*.

2.- *Edwardsiella*

6.- *Klebsiella*

10.- *Proteus*

3.- *Citrobacter*

7.- *Enterobacter*

11.- *Yersinia*.

4.- *Salmonella*

8.- *Hañia*.

D.: Reacciones diferentes dadas por diferentes especies de un genero.

d.: Reacciones diferentes dadas por diferentes cepas de una especie o serotipo.

x.: Positiva irregular o tardía (mutante).

APÉNDICE D. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS^(Cowan, Davis, Mac Fadin)

Streptococcus sp.

- *Bacterias ovales y coccas Gram (+), inmóviles.
- *Se aíslan en pares o cadenas.
- *Aeróbicos y anaerobios facultativos.
- *Algunos medios de cultivo: principalmente agar sangre, agar chocolate.
- *Colonias pequeñas, puntiformes, pueden presentar hemólisis total (beta), parcial (alfa).
- *Catalasa y oxidasa (-).

Staphylococcus sp.

- *Cocos Gram (+), inmóviles.
- *Aislados en pares o formando racimos de uvas.
- *Aeróbicos o anaerobios facultativos.
- *Algunos medios de cultivo: agar sal y manitol, agar sangre, agar chocolate, agar 110.
- *Colonias grandes, cremosas, con bordes bien definidos, color que va desde blanco a amarillo o naranja.

*Catalasa (±) fuerte. Oxidasa (-).

**Staphylococcus aureus* es coagulasa (-)

**Staphylococcus epidermidis* es coagulasa (-) y sensible a novobiocina.

Lactobacillus sp.

*Bacilos o cocobacilos Gram (+), delgados y largos o cortos.

*Se aíslan en cadenas o solos.

*Aerobios o anaerobios facultativos.

*Algunos medios de cultivo: agar sangre, agar chocolate.

*Colonias pequeñas con ligera hemólisis beta.

*Catalasa negativa e inmóviles.

Gardnerella vaginalis.

*Bastones Gram (-) pequeños, pleomórficos, inmóviles.

*Anaerobios facultativos.

*Algunos medios de cultivo: agar cassman, agar sangre, agar chocolate, agar peptona-almidón-dextrosa.

*Colonias pequeñas, puntiformes con pequeña zona de hemólisis beta.

*Sensible a polanetol sulfonado sódico

*Catalasa y oxidasa (-).

*Para su diagnóstico se debe cumplir con al menos tres de las siguientes características:

- pH de la secreción vaginal mayor a 4.5
- Presencia de las células "clave" o guía en el examen en fresco o Gram.
- Prueba positiva a KOH al 40%.
- Secreción vaginal grisácea.

****Escherichia coli*.**

- *Bacilos o cocobacilos Gram (-).
- *Aeróbicos o anaerobios facultativos.
- *Catalasa (+)
- *Oxidasa (-)
- *Algunos medios de cultivo: agar MacConkey, agar eosina azul de metileno (EMB).
- *Colonias en agar MacConkey Lac(+) fuertes.

****Klebsiella sp***

- *Bacilos Gram (-) inmóviles.
- *Aeróbicos y anaerobios facultativos
- *Catalasa (+)
- *Oxidasa (-)
- *Crecen en agar MacConkey como colonias Lac (+) débil.

****Proteus sp.***

- *Bacilos Gram (-) móviles
- *Aeróbicos y anaerobios facultativo
- *Son Lac (-)
- *Crecen en agar sangre, MacConkey , EMB
- *En sangre da SWERMING.

ESTA TESIS NO SALE DE LA BIBLIOTECA

9.- REFERENCIAS^(Palou)

Amsel R., et al. "Non specific vaginosis: diagnostic criteria and microbial and epidemiology association." Am. J. Med. 1983;74:14-22.

Arias F. Guía práctica para el embarazo y parto de alto riesgo. 2Ed. Mosby Doyma 1995.

Arredondo G.J: "Vaginosis bacteriana" Instituto Nacional de Perinatología S.A.S. México 1994 1-31.

.... "Ruptura prematura de membranas en parto pretérmino". Gac. Med. Mexico 1998, **134**:433-40.

...."Vaginosis bacteriana. Instituto Nacional de Perinatología S.S.A. I-V

Botella, José y J.A. Clavero. Tratado de Ginecología. 14Ed. Díaz de Santos. Madrid, España. 1993.

Calderón J.E. y F.H. Villagana. "Etiología de la vaginosis". Instituto Nacional de Perinatología S.S.A. 11-17!

Cowan S, Steelks. Manual para la identificación de bacterias de importancia médica

2Ed. Continental. México 1979.

Daniel, Wayne. Bioestadística 3Ed.Limusa. 1988

Davis R.D. et al. Tratado de Microbiología. 3Ed. Salvat. Mexico 1990.

De la Cruz GR. et al Características microbiológicas de la vaginosis bacteriana.
Ginec. Obster. Méx. 1987;**55**: 74-79.

Dorland. Diccionario de Ciencias Médicas. 5Ed. EL Ateneo. Buenos Aires,
Argentina. 1975.

Gardner, H.L. and C.D. Dukes. "*Haemophilus vaginalis* vaginitis: a newly defined
Specific infection previously classified "nonspecific" vaginitis". Am. J. Obstet.
Gynecol. 1955; **69**:962-976.

González,V.E. Alteraciones en la prueba postcoital (Simshühner) debidas a la
presencia de microorganismos patógenos en el tracto genital de pacientes
con problemas de esterilidad. FES-C. UNAM 1997.

Gibbs R.S.,et al. "A review of premature birth and subclinical infection". Am. Obst.

Gynecol. 1992;**166**:1515-26.

Gratacos E. et al. "Spontaneous recovery of bacterial vaginosis during pregnancy is not associated with an improved perinatal outcome". Acta Obstet. Gynecol. Scand. 1998;**77**:37-40.

Hilliar, S.L. et al. "Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant". N. Engl. J. Med. 1995;**333**:1737-42.

Kurky, T.A. "Survey of etiological mechanisms and therapy of preterm labor". Acta Obst. Gynecol Scand. 1998;**77**:137-41.

Jantien J. et al. "Vaginitis, cervicitis, and cervical length in pregnancy" AM. J. of Obstetrics and Gynecology. 1999;**181**:964-967.

Jawetz E, Joseph L; Melnick, Edward A; Adelberg. Manual de Microbiología Médica. 3Ed. El Manual Moderno. 1968.

Mac Faddin. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia Clínica. Médica Panamericana. México. 1990.

Meis P.J. et al. "The preterm prediction study: significance of vaginal infection". Am. J. Obstet. Gynecol. 1995;**173**:1231-5.

Minkoff H. et al. "Risk factors for premature rupture of membranes: prospective of vaginal flora in labour". Am. J. Gynecol. 1984;**150**:965-72.

Müller E. et al "Cost of Bacterial Vaginosis in Pregnancy Decision Analysis and Cost Evaluation of a Clinical Study in Germany." The Journal of Reproductive Medicine. 1999; **44**:807-814.

Narcio R.M.L. "Cuadro clínico y diagnóstico de laboratorio". Instituto Nacional de Perinatología SSA. 1-7.

Paavonen, J. "Physiology and ecology of the vagina". Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 1983;**40**:31-35

....et al. "Etiology of cervical inflammation". Am. J. Obstet. Gynecol. 1986; 556-64.

Palou, Pedro A. Redacción 2. Leer, Escribir, Investigar. Prentice-Hall Hispanoamericana. México 1997.

Quirco, Fernando. Tratado de anatomía Humana. Porrúa Hnos. México 1945

Romero R, M. Mazor. "Infection and preterm labor". Clin. Obstet. Gynecol. 1988;
31:553-82.

Sereno C.J. et al. Frecuencia de diferentes patógenos como causa de vaginosis en México. Estudio multicéntrico. Ginec. Obstet. Méx. 1990;**58**:128-132.

Schumacher, G.F. "Cervical secretion of product of atarget organ for estrogens and Gestagens". In insler, V.,G Bettendorf: The uterine cervix in reproduction.
Thieme, Stuttgart. 1997.

Shibley, Janet. Entendiendo la sexualidad humana.CECSA. México 1989.

Thomanson J.L. and S.M. Gelbart. Bacterial vaginosis. Current conepts. The Upjohn Company, Kalamazoo, Michigan. USA. 1990.

Villegas C.H. y M.Z Beltrán. "La untraestructura en la vaginosis bacteriana".
Instituto Nacional de Perinatología S.S.A. 27-31.

Weström, L. et al "Taxonomy of vaginosis –a definition. In: Mårdh P-A Taylor-

Robinson D.(eds). Bacterial Vaginosis". Uppsala, Stockholm, Sweden:
Alquimistad Wilksell, International. 1984;259-260.

2