UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

AREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO

"PREVALENCIA DE VAGINOSIS BACTERIANA EN MUJERES TRABAJADORAS SEXUALES QUE ACUDEN A LA CONSULTA GINECOLÓGICA DEL CENTRO DE SALUD № 1 DE LA CIUDAD DE LOJA"

Tesis previa a la obtención del Título de Licenciada en Laboratorio Clínico

AUTORA

Dalia Alexandra España Arboleda

DIRECTOR DE TESIS

Lcdo. Ángel Luzón

Loja – Ecuador
2011

CERTIFICACIÓN

Lcdo.

Ángel Luzón

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de investigación titulado: "**PREVALENCIA DE VAGINOSIS BACTERIANA EN MUJERES TRABAJADORAS SEXUALES QUE ACUDEN A LA CONSULTA GINECOLÓGICA DEL CENTRO DE SALUD № 1 DE LA CIUDAD DE LOJA"**. Fue dirigido, supervisado y revisado prolijamente en toda su extensión; la misma que cumple con todos los parámetros legales que exige la institución.

……

Lcdo. Ángel Luzón

DIRECTOR DE TESIS

AUTORÍA

Las ideas, opiniones, conceptos, datos, apreciaciones, conclusiones y recomendaciones vertidas en el presente trabajo investigativo: **"PREVALENCIA DE VAGINOSIS BACTERIANA EN MUJERES TRABAJADORAS SEXUALES QUE ACUDEN A LA CONSULTA GINECOLÓGICA DEL CENTRO DE SALUD N°1 DE LA CIUDAD DE LOJA"**, son de exclusiva responsabilidad de la autora.

……

Dalia Alexandra España Arboleda

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por ser fuente inagotable de fortaleza, por no haber dejado que desvaneciera en el camino hacia el éxito.

Expreso mi más sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de Loja del Área de la Salud Humana de la Carrera de Laboratorio clínico de la ciudad de Loja, por las enseñanzas que supieron impartir durante mi formación profesional.

De igual forma agradezco de manera especial al Lcdo. Ángel Luzón por su asesoramiento y apoyo durante el trabajo investigativo, También expreso mi gratitud al Centro de Salud N°1 ,así como al personal administrativo, al Laboratorio clínico y médicos Gineco-Obstetras por su incalculable colaboración durante el desarrollo del trabajo de campo en este centro de salud. Y para finalizar a todas las personas que participaron para la elaboración de este estudio

AUTORA

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo lo dedico a DIOS. A mis queridos padres, mi hermana, que con su singular afecto y cariño supieron brindarme apoyo y comprensión en mis deseos de esfuerzo y superación para culminar con éxitos en mi vida profesional.

A mis familiares y amigos vaya toda mi consideración y respeto, ya que con su abnegación, cariño me ayudaron a alcanzar la meta.

Dalia Alexandra España Arboleda

INDICE

CONTENIDO **PÁG.**

CERTIFICACIÓN.....II

AUTORÍA.....III

AGRADECIMIENTO.....IV

DEDICATORIA….....V

TÍTULO.....VII

RESUMEN….....VIII

SUMARY….....IX

I. INTRODUCCIÓN…….…...….10

II. REVISIÓN DE LITERATURA…….……..14

III. METODOLOGÍA…….……...….32

IV. RESULTADOS…….…….……35

V. DISCUSIÓN……..…….…39

VI. CONCLUSIONES…….....…..42

VII.RECOMENDACIONES…….….….43

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS…….…….44

ANEXOS…….....…...50

TÍTULO

PREVALENCIA DE VAGINOSIS BACTERIANA EN MUJERES TRABAJADORAS SEXUALES QUE ACUDEN A LA CONSULTA GINECOLÓGICA DEL CENTRO DE SALUD № 1 DE LA CIUDAD DE LOJA

RESUMEN

RESUMEN

La vaginosis bacteriana es un síndrome que se presenta con flujo vaginal sintomático y al que con anterioridad se lo conocía como vaginitis por *Gardnerella,* vaginitis inespecífica. El síntoma primario de la vaginosis bacteriana es el flujo genital, otro síntoma cardinal es el olor vaginal desagradable (22).

El objetivo de estudio de esta investigación fue determinar la prevalencia de vaginosis bacteriana en la secreción vaginal, así como identificar los tipos de gérmenes más frecuentes en la secreción vaginal de las mujeres trabajadoras sexuales que acuden a la consulta ginecológica del Centro de Salud № 1 de la Ciudad de Loja; a través de métodos y técnicas apropiadas que permitan identificar los diferentes tipos de microorganismos causantes de este tipo de infecciones. Se analizó el contenido vaginal mediante examen en fresco, coloración Gram, prueba de aminas y cultivo y pruebas bioquímicas para la identificación del agente bacteriano.

Después del análisis de laboratorio y estadístico se determinó que la prevalencia de vaginosis bacteriana es del 61% (61 casos) siendo el *Haemophylus vaginalis* con el 21% el agente bacteriano de mayor incidencia en las trabajadas sexuales estudiadas en la ciudad de Loja, asociados a otros agentes bacterianos como el *Escherichia coli* con el 14 %, *Estafilococo aureus* con el 10 %, *Proteus miravilis* con el 6 %, *Estafilococo Epidermis* con 4 %, *Estafilococo saprofiticus* con el 4%, *Estreptococo beta hemolítico* con el 2 %, todo esto contrasta con el 39% (39 casos) de pacientes en las que no se encontró crecimiento bacteriano significativo, de un total de 100 muestras analizadas. Los malos hábitos de higiene, excesiva actividad sexual, múltiples compañeros sexuales, mala utilización de preservativo, utilización de anticonceptivo intravaginales, y presencia de cuerpos extraños, se presentaron como factores de riesgo asociados a las diferentes infecciones vaginales, en las trabajadoras sexuales.

Palabras clave: Vaginosis, microorganismos, cultivo, pruebas bioquímicas.

SUMARY

Bacterial vaginosis is a syndrome that presents with symptomatic vaginal discharge and who previously was known as Gardnerella vaginitis, nonspecific vaginitis. The primary symptom of bacterial vaginosis is the genital discharge; another cardinal symptom is an unpleasant vaginal odor (22).

The objective of this research was to determine the prevalence of bacterial vaginosis in vaginal discharge, and identify the most common types of germs in the vaginal secretion of female sex workers attending the gynecology clinic of the Health Center's № 1 Loja City, through appropriate methods and techniques to identify different types of microorganisms that cause these infections. Vaginal content was analyzed by direct smear, Gram stain, and culture amine test and biochemical tests to identify the bacterial agent.

After laboratory and statistical analysis found that the prevalence of bacterial vaginosis was 61% (61 cases) being the Haemophilus vaginalis with 21% of the bacterial agent with the highest incidence among the sex workers surveyed in the city of Loja, related to other bacteria such as Escherichia coli to 14%, Staphylococcus aureus with 10%, Proteus miravilis with 6% to 4% Staphylococcus epidermis, Staphylococcus saprofiticus to 4%, beta hemolytic streptococcus with 2%, this contrasts with 39% (39 cases) of patients in whom there was no significant bacterial growth, a total of 100 samples analyzed. The poor hygiene, excessive sexual activity, multiple sexual partners, poor condom use, use of intravaginal contraception, and presence of foreign bodies are presented as risk factors associated with different vaginal infections in sex workers.

Keywords: Vaginosis, microorganisms, culture, biochemical test

I. INTRODUCCIÓN

I.INTRODUCCIÓN

La vaginitis o vulvovaginitis es una inflamación de la vagina que provoca secreciones con olor característico, eritema, dolor, ardor, escozor, irritación y escasa pérdida de sangre. La evaluación de la vaginitis requiere un interrogatorio, examen físico del paciente y análisis de la secreción vaginal. La prevalencia no es bien conocida debido al diagnóstico y tratamiento que el propio paciente realiza sin una consulta médica y el comportamiento asintomático evidenciado.

La vaginitis es la enfermedad ginecológica más común encontrada en la atención médica primaria. Su diagnóstico en ocasiones resulta difícil, porque tal como se lo menciona anteriormente esta puede tener manifestaciones simples o combinaciones de síntomas de diferentes etiologías, siendo frecuente un comportamiento asintomático.

La vaginosis bacterianas se trata de una infección polimicrobiana debida a un sobre crecimiento de organismos anaerobios, que incluye a las bacterias *Gardnerella vaginallis* y *Mobiluncus*, y se acompaña de una disminución de la flora normal de lactobacilos (1). La vaginosis bacteriana es el tipo más frecuente de infección vaginal, en mujeres que se encuentran en edad reproductiva (15 a 44 años); actualmente representa, cuando menos, una tercera parte de todas las infecciones vulvovaginales.

La vaginosis bacteriana representa un alto riesgo para el desarrollo de enfermedades de trasmisión sexual, y en algunos estudios se ha encontrado una relación entre vaginosis bacteriana y comportamientos de alto riesgo asociados con las enfermedades de transmisión sexual, tales como: actividad sexual temprana, múltiples parejas sexuales, y personas que ejercen el oficio de la prostitución. La mayoría de los trabajadores sexuales en general desconocen la sintomatología asociada a las infecciones de trasmisión sexual, por lo que muchas de las veces resulta difícil diagnosticar y mucho menos prevenir este tipo de infecciones (35).

Todo esto hace de que hoy en día las infecciones vaginales se hayan convertido en uno de los problemas más relevantes en lo que concierne al campo de la salud pública puesto que la misma es una infección asociada a una serie de factores que realmente se engloban en la parte socioeconómica del estatus social y en este caso de la población estudiada que es la de las trabajadoras sexuales, siendo este uno de los grupos vulnerables a tener este tipo de infecciones, esto por el estilo de vida y factores de riesgo a los cuales están expuestas.

La incidencia de la vaginosis bacteriana depende del tipo de población estudiada. Así en mujeres que acuden a una consulta ginecológica generalmente el porcentaje de vaginosis bacteriana es de 10%. Un porcentaje similar se observa en las consultas obstétricas. En mujeres estudiadas en centros donde se realizan abortos el porcentaje es ligeramente superior al 30%. En trabajadoras sexuales el porcentaje está entre 13 y 71% (9). Dato que concuerda con el obtenido en el año 2009 en el Centro de Salud No. 1 de nuestra ciudad donde la prevalencia de vaginosis bacteriana ascendía al 63%.

En mujeres en edad reproductiva, la vaginosis bacteriana, asociada con otros agentes patógenos comprenden alrededor del 95% de las infecciones del tracto genital inferior, y aunque la prevalencia de estas tres condiciones varía dentro de las poblaciones, la vaginosis bacteriana es responsable de alrededor del 45% de los casos. Más del 50% de las mujeres con signos demostrables de vaginosis bacteriana son asintomáticas.

La escasez de datos básicos sobre la verdadera incidencia y prevalencia de las enfermedades de transmisión sexual, no permite contar con información confiable para estimar el impacto de la transmisión de este tipo de enfermedades en los países en vía de desarrollo como el nuestro, además la falta de estudios epidemiológicos sobre este tipo de infecciones genitales y en este grupo vulnerable a graves problemas de salud pública, como lo son las trabajadoras

sexuales, crea la necesidad de establecer en este trabajo de investigación el propósito de determinar la prevalencia de vaginosis bacteriana, así como identificar los tipos de gérmenes más frecuentes en la secreción vaginal de las mujeres trabajadoras sexuales que acuden a la consulta ginecológica del Centro de Salud N° 1 de la Ciudad de Loja, a través de métodos y técnicas apropiadas que permitan identificar los diferentes tipos de microorganismos causantes de este tipo de infecciones.

La metodología propuesta estuvo encaminada a un estudio descriptivo de corte transversal que acogió a la población de trabajadoras sexuales que acude al Centro de Salud №1 de la Ciudad de Loja, tomando en cuenta los criterios de inclusión y exclusión; para realizar el análisis de laboratorio en el cual se realizó, el examen en fresco, tinción de Gram, y cultivos bacterianos para la identificación de agentes causales de esta patología.

Después del análisis de laboratorio y estadístico se determinó que la prevalencia de vaginosis bacteriana es del 61% (61 casos) siendo el *Haemophylus vaginalis* con el 21% el agente bacteriano de mayor incidencia en las trabajadas sexuales estudiadas en la ciudad de Loja, asociados a otros agentes bacterianos como el *Escherichia coli* con el 14 %, *Estafilococo aureus* con el 10 %, *Proteus miravilis* con el 6 %, *Estafilococo Epidermis* con 4 %, *Estafilococo saprofiticus* con el 4%, *Estreptococo beta hemolítico* con el 2 %, y el 39% (39 casos) de pacientes sanas en las que no se encontró crecimiento bacteriano significativo, de un total de 100 muestras analizadas.

Los malos hábitos de higiene, excesiva actividad sexual, múltiples compañeros sexuales, mala utilización de preservativo, utilización de anticonceptivo intravaginales, y presencia de cuerpos extraños, se presentan como factores de riesgo asociados a las diferentes infecciones vaginales, en las trabajadoras sexuales.

Los datos publicados en el presente trabajo investigativo constituye como un aporte a los profesionales de la salud, comunidad universitaria, laboratorista, médicos en general para de esta forma contribuir en el buen diagnóstico del agente patógeno causante de vaginosis bacteriana, y se aplique el tratamiento adecuado por parte de los galenos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

II.REVISIÓN DE LITERATURA

VAGINA

La vagina cumple una doble finalidad: es el órgano de la cópula, receptor del semen en el acto del coito, y cuando la mujer es fecundada se constituye en la vía natural del parto. Por estar en relación directa con el exterior o por la actividad sexual se halla expuesta a la invasión de gérmenes; sin embargo, en su propio contenido posee un mecanismo de defensa, el bacilo de Doderlein, que actúa como elemento depurador.

En la mujer normal el contenido vaginal tiene un aspecto blanquecino, grumoso, que en el examen aparece adosado a las paredes del órgano; está constituido por células exfoliadas, bacilos de Doderlein, líquido trasudado y escasos leucocitos. Este contenido depende de la influencia estrogénica, de ahí que fuera del período de actividad sexual se lo encuentra en cantidades menores, como sucede en la niñez y en la posmenopausia.

Las células vaginales se hallan en constante renovación; a medida que las de la superficie epitelial se desprenden, son sustituidas por otras gracias a la proliferación de la capa basal. Estas células contienen glucógeno, que se convierte por acción enzimática en glucosa, la cual es transformada por los bacilos de Doderlein en ácido láctico; este último le confiere al contenido vaginal un pH ácido de 3.8 a 5, según las fases del ciclo hormonal ovárico, acidez que hace incompatible la vida microbiana patógena.

Para que este proceso tenga lugar son necesarias, además de la increción de estrógenos, una temperatura y humedad adecuadas que se obtienen con una buena oclusión vulvar (10).

FLORA VAGINAL

La vulva posee folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas, y glándulas mucosecretoras, como las glándulas de Skéne y de Bartholin. Contiene una microflora en su mayor parte formada por microorganismos que proceden de la flora intestinal.

El glucógeno celular es metabolizado a ácido láctico (y a otros ácidos de cadena corta) por un grupo de gérmenes (las diferentes especies de lactobacilos) grampositivos, aerobios y facultativos, de baja virulencia, de los que el más característico es el *Lactobacillus acidophillus* de Doderlein, productor de peróxido de hidrógeno (capaz de impedir el crecimiento de las bacterias que, como las anaerobias, carecen de catalasa) y de *bacteriocina* (lactocina que inhibe el crecimiento de varios tipos bacterianos).

Otras bacterias vaginales y enzimas colaboran en este proceso. Además, la combinación de un ion haluro, tal como el cloruro, presente en abundancia en la vagina, con peroxidasa, presente en el endometrio y en el fluido vaginal, y H_2O_2 producido por ciertas cepas de lactobacilos,. Actualmente este complejo ecosistema, aquí muy esquematizado, se considera fruto de la acción sinérgica de toda la flora polimicrobiana vaginal.

Flora bacteriana vaginal en mujeres asintomáticas

BACILOS AEROBIOS GRAMPOSITIVOS	
Lactobacillus	50-96 %
Difteroides	13-76 %
COCOS AEROBIOS GRAMPOSITIVOS	
Streptococcus a-hemolyticus	16-20 %
Streptococcus jí-hemolyticus	2-27 %
Streptococcus no hemolytícus	4-33 %
Streptococcus D	9-15 %
Staphylococcus epidermidis	*29-67 %*
Staphylococcus aureus	*1-10 %*
BACILOS AEROBIOS GRAMNEGATTVOS	
Esckerichia cali	*3 - 28 %*
Klebsiella spp.	*4 %*
Proteus mirabilis	*4 %*
BACILOS ANAEROBIOS GRAMPOSITIVOS	
Clostrídium spp.	*1-18%*
Lactobacillus spp.	*10-45%*
Eubacteríum spp.	*7-36 %*
COCOS ANAEROBIOS GRAMPOSITIVOS	
Peptococcus spp.	*30-64 %*
Peptostreplococcus spp.	*20-45 %*
Fusobacterium. spp.	*7-23 %*
BACILOS ANAEROBIOS GRAMNEGATIVOS	
Veillonella spp.	*10-15 %*
Bacteroides spp.	*4-17 %*
Prevotella spp.	*12 %*
Porphyromonas spp.	*33 %*

La vagina no posee glándulas, y no existe por tanto una secreción vaginal, pero el órgano está humedecido por un trasudado en el que se bañan células vaginales descamadas y al que se añaden secreciones del endometrio, moco cervical y pequeñas cantidades de secreciones de las glándulas vulvares (23).

El exudado vaginal, del que se producen alrededor de 4.8 g diarios, contiene diferentes sustancias (agua, urea, proteínas, glúcidos, ácidos grasos, aminas, etc.) que pueden ser utilizadas como sustrato por los microorganismos. El fluido vaginal puede experimentar aumentos fisiológicos, por ejemplo, en los días previos a la ovulación por incremento del contenido hídrico del moco cervical (tras la ovulación hay una cierta sequedad de vagina), o en la fase de excitación que precede al coito en las relaciones sexuales por aumento de trasudado vaginal.

Por diversas circunstancias puede alterarse el pH de la vagina, a veces en condiciones fisiológicas (la sangre menstrual o el semen tienen pH neutro o básico) y otras en condiciones patológicas (presencia de pólipos o erosiones en el cuello uterino), con lo que se altera el ecosistema vaginal, se facilita el crecimiento de gérmenes patógenos y oportunistas, y se modifica la cantidad y consistencia del exudado vaginal dando lugar a la aparición de lo que conocemos como leucorrea.

Durante el ciclo menstrual se registran variaciones de la población bacteriana, con un aumento del número absoluto de bacterias y una disminución de especies en la fase premenstrual, y disminución del número y aumento de las especies durante la menstruación. Los lactobacilos experimentan por lo general un aumento progresivo a lo largo del ciclo, mientras que los anaerobios descienden en la fase premenstrual.

En relación directa con la baja producción estrogénica, antes de la menarquia y después de la menopausia (y en cierto modo también durante la lactancia), las

paredes vaginales están adelgazadas, con ausencia de glucógeno; el exudado vaginal es escaso, y el pH es más elevado ello favorece la migración bacteriana.

PUERTA DE ENTRADA Y VÍAS DE LA INFECCIÓN GENITAL

La mayor parte de las infecciones vaginales son infecciones ascendentes; y generalmente exógenas. La puerta de entrada de los gérmenes puede ser:

- Atravéz de la vulva, la vagina o el cérvix uterino, pudiendo producirse infecciones locales (vulvitis, vaginitis o colpitis, cervicitis) que tienen expresión clínica muy diversa, dependiente del germen causal, y que se conocen como **Infecciones bajas.**
- Desde aquí pueden extenderse a los tramos superiores y producir infecciones de endometrio (endometritis), trompa (salpingitis), ovario (ovoforitis) o peritoneo (pelviperitonitis) se conoce como **Infecciones altas.**

Otra posibilidad es la de que las lesiones vulvares o vaginales específicas sean la puerta de entrada a infecciones sistémicas con repercusión orgánica general, que son las enfermedades de transmisión sexual, que se conocían antiguamente por el nombre de Enfermedades venéreas.

INFECCIONES VULVOVAGINALES

Este tipo de infección es uno de los problemas más comunes en el área de Ginecología y es causada principalmente siguientes tipos de microorganismos:

- Bacterias: Como *G. vaginalis, E. coli, Clamidias, Streptococos, Stafilococos,* etc.
- Protozoo: Como *Trichomonas vaginalis*
- Hongos: Como *C.albicans*
- Virus: *Como N. gonorrhoeae, herpes, etc* (24).

VAGINOSIS BACTERIANA

La Vaginosis bacteriana es un síndrome que se presenta con flujo vaginal sintomático y al que con anterioridad se lo conocía como vaginitis por *Gardnerella,* vaginitis inespecífica o vaginosis bacteriana. La Vaginosis no es un proceso inflamatorio está caracterizado por una escases relativa de células inflamatorias de allí el nombre de Vaginosis en lugar de vaginitis (23).

En la vaginosis bacteriana (VB) se produce un cambio gradual de los lactobacilos normales, productores de peróxido de hidrógeno, por un grupo de agentes polimicrobianos, en altas concentraciones; forman este grupo anaerobios *(Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas, Peptostreptococcus* y *Mobiluncus), Gardnerella vaginalis* y *Mycoplasma hominis,* a los que se suman lactobacilos anaerobios no productores de peróxido de hidrógeno, actuando todos ellos en interrelación simbiótica sin acompañarse de respuesta inflamatoria. La concentración total de gérmenes en vagina se multiplica por cien. *Bacteroides, Gardnerella* y *Mycoplasma* elaboran unas aminopeptidasas que, actuando sobre las proteínas, producen las aminas responsables de la elevación del pH y del mal olor.

En la histología de esta enfermedad no se observan hallazgos específicos, tan solo una respuesta general de inflamación, una leve infiltración leucocitaria, además de la presencia de *Gardnerella vaginalis* y otras bacterias, tanto sobre las células, como extracelularmente, a manera de cocobacilos (células clave).

Parece que es bastante frecuente, aunque muchas veces sea asintomática, pero su exacta prevalencia no puede conocerse mientras que no se acepten unos criterios diagnósticos uniformes. La actividad sexual es un factor predisponente, y las mujeres con múltiples compañeros sexuales son el principal grupo de riesgo. Aunque los gérmenes involucrados en la vaginosis bacteriana sí se transmiten por contacto sexual, la enfermedad (es decir, el cambio en el ecosistema bacteriano) no parece transmitirse exclusivamente de esta forma.

ETIOLOGÍA

La flora aerobia y anaerobia de la vagina puede colonizar e infectar el tracto genital superior. Entre las bacterias facultativas (aerobias) se incluyen como más frecuentes *Escherichia coli,* especies de *Streptococcus* y *Gardnerella vaginalis.* Los anaerobios tienden a predominar sobre los aerobios y tienen una mayor importancia en los abscesos; los más frecuentes parecen ser especies de *Peptostreptococcus, Bacteroides, Prevotella* y *Porphyromonas.* En cuanto a los microorganismos típicos del colon, entre los que conviene destacar *Bacteroides fragilis* y *E. coli,* aunque pueden estar involucrados por su ascenso desde la vagina, hay autores que sugieren la posibilidad de su paso a través de la pared intestinal. La presencia de patógenos respiratorios como *Haemophilus influenzae,* menos frecuentemente *Streptococcus pyogen.es, Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae* se pueden llegar a encontrar involucrados en las infecciones genitales (23) **.**Los síntomas que llevan a muchas mujeres jóvenes a la consulta del médico son: secreción vaginal aumentada, coloración anormal de la secreción, prurito vulvar, fetidez vaginal, sensación de irritación o quemazón, a menudo con disuria externa, dispareunia vulvar ó sangrado anormal (menorragia o metrorragia . Estas infecciones pueden dejar secuelas graves y favorecer a veces la transmisión sexual del virus de inmunodeficiencia humana (6)

SIGNOS Y SÍNTOMAS

La leucorrea es un síntoma común de vaginosis bacteriana. Sin embargo la descripción difiere según la causa. La leucorrea de la vaginosis bacteriana generalmente es fina, o blanquecina grisácea, maloliente. La mujer también puede experimentar mal olor.

Con menos frecuencia que en otras vaginitis la paciente refiere irritación vaginal y vulvar, disuria, dispareunia o dolor abdominal. Recientemente se ha asociado a la vaginosis bacteriana, con parto prematuro, rotura prematura de membranas. endometritis, y mayor riesgo de infección tras la cirugía ginecológica (9).

DIAGNOSTICO

El diagnostico de las causas habituales de la vaginosis implica la obtención de una muestra de la leucorrea o flujo vaginal y la determinación de la misma se basa fundamentalmente en tres criterios determinados por Amsel :

- pH vaginal mayor a 4.5.
- Examen en fresco poca reacción inflamatoria, abundantes bacterias, presencia de células claves. Estas fueron descritas por Gardner, son células cervicovaginales descamadas, con bordes poco netos, irregulares, con cocobacilos adheridos a su citoplasma. Si bien no son patognomónicas de la vaginosis, son junto con otros criterios muy orientativos.
- Test de aminas; al mezclar con una gota de hidróxido de potasio al 10% se desprenden aminas y se percibe un característico olor desagradable.

Se da por positivo aquel caso donde se encuentren al menos 2 criterios de los mencionados anteriormente. La determinación de el o los agentes etiológicos no es imprescindible para el adecuado manejo y curación de la paciente. Este diagnóstico no requiere de recursos costosos, es rápido y poco laborioso (16).

ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

EXAMEN EN FRESCO

El examen en fresco de una suspensión microbiana es la técnica de observación microscópica más fácil y rápida de realizar. Es además el método de elección cuando se desea evitar la alteración de que sufren de los microorganismos de una muestra cuando este se somete a una fijación y a una posterior tinción, dichas alteraciones ocasionan en la mayoría de los casos la rápida muerte de los microorganismos. Por ello el examen en fresco posibilita la observación de microorganismos vivos, y permite estudiar determinadas características como su morfología y tamaños reales, su color natural o su movimiento. Sin embargo el

examen en fresco de microorganismos que carecen de color natural puede dar resultados deficientes debido al reducido contraste entre la muestra y el medio circundante, esta limitación se puede superar recurriendo a técnicas microscópicas especiales (8).

Permite detectar la reacción inflamatoria visualizar hongos y parásitos.

CÉLULAS CLAVE

Las células clave son células vaginales exfoliadas que se ven en la observación microscópica de las secreciones vaginales. Las bacterias de forma oval se fijan a la superficie, obscureciendo el borde celular cuando se ven al microscopio. Estas bacterias que son cocobacilos, son bastante distintas morfológicamente de los lactobacilos más largos este hallazgo es prácticamente patognomónico de la VB. Los microorganismos responsables son principalmente *G. vaginalis* y *Mobiluncus.* Las células clave pueden visualizarse tanto en la preparación en fresco (añadiendo suero salino) como en la tinción de Gram de las secreciones vaginales. Aunque se utiliza con más frecuencia la preparación en fresco, la tinción de Gram es la técnica más sensible, con una sensibilidad mayor al 90%. La tinción de Gram revela una escasez de bastones largos grampositivos de lactobacilos y una abundancia de bacilos gramnegativos, grampositivos, y también de formas Gram variables asociadas a las células epiteliales (7).

TINCIÓN DE GRAM (TINCIÓN DIFERENCIAL)

Es la más utilizada en los laboratorios de bacteriología y permite, de acuerdo con la estructura y grosor de la pared bacteriana agrupara a las bacterias en Gram positivas, y Gram negativas. Las Gram positivas tienen una pared gruesa de pectidoglicán y carecen de membrana externa, mientras que las Gram negativas tiene una capa más delgada de pectidoglicán y poseen una membrana externa.

Algunas bacterias se clasifican como Gram variables, pues simultáneamente se presentan tinción de Gram positivas y Gram negativas, aun bajo condiciones óptimas de cultivo. Sin embargo, en su estructura estas bacterias poseen una pared gran positiva, aunque la capa de pectidoglicán es más delgada que la mayoría de las bacterias Gram positivas.

Esta tinción, correlaciona con otras propiedades como endotoxinas, susceptibles a antibióticos, sensibles o resistentes a sales biliares, punto isoeléctrico, y tensión superficial.

Existen variaciones de esta técnica, pero en términos generales, la tinción de Gram involucra varios pasos:

1. **Tinción inicial**. las células se tiñen de cristal violeta, el cual es el colorante primario, en este paso todas las células se tiñen de morado.
2. **Mordiente**. Se adiciona yoduro (lugol) que reacciona con el cristal violeta y forma un complejo cristal violeta-yoduro. En este punto todas las células continúan de color morado.
3. **Decoloración**. Se adiciona un solvente no polar, el cual actúa lavando el complejo cristal violeta-yoduro de las células Gram negativas. De esta manera las bacterias Gram positivas continúan moradas y las Gram negativas quedan incoloras. Este es el paso critico de esta tinción, pues si se exagera, se decolora las Gram positivas, y si se hace muy débil no decolora las Gram negativas.

4. **Contratinción**. Se vuelve a teñir con safranina o fucsina, de manera que las bacterias Gram negativas, que habían sido decoloradas, se tiñen de rosado o fucsia según el colorante empleado¸ en tanto las bacterias Gram positivas no se afectan con la contratinción y permanecen moradas debido a la intensa tinción de esta tinción.

Además de una excesiva tinción existe otro factor, que puede influir en que las bacterias Gram positivas se observen parcial o completamente rosadas, es la edad del cultivo; las células viejas tienden a perder su capacidad de retener el complejo cristal violeta-yoduro y por lo tanto las bacterias se ven rosadas. Otro factor de variabilidad podrían ser condiciones de estrés durante el cultivo, que genera formas Gram negativas no variables, dentro de un cultivo de bacterias Gram positivas.

Debe prestarse atención a los lavados que se realizan al ir agregando los diferentes reactivos, si se deja un exceso de agua en la lámina los reactivos se diluirán, especialmente el yoduro.

Aunque esta técnica parece simple, su realización con un alto grado de confiabilidad, requiere práctica y experiencia (19).

MEDIOS DE CULTIVO

Agar MacConkey.

El agar macConkey es el agar primario, selectivo y diferencial utilizado con mayor frecuencia. Este medio contiene el colorante violeta cristal que inhibe el crecimiento de las bacterias Gram positivas y de los hongos y permite el desarrollo de muchos bacilos Gram negativos. El indicador de pH, rojo neutro le otorga a este medio su propiedad diferencial. La fermentación bacteriana de la lactosa determina la formación de ácido, lo que disminuye el pH del medio y hace que el indicador rojo neutro le confiera a las colonias bactrianas un color rosado a rojo. Las bacterias no fermentadoras de lactosa, como la especie de *Shigella* permanecen incoloras y translucidas.

Agar Sangre

La mayor parte de muestras para bacteriología se inoculan en placas de agar sangre por que este medio favorece el desarrollo de todas las bacterias de importancia clínica excepto aquellas que presentan requerimientos mas especiales de cultivo. Además las morfologías de las colonias que se encuentran con más frecuencia en este medio son familiares para la mayoría de los microbiólogos clínicos.

El medio consiste en una fuente de proteína (p.ej. triptona), digerido proteico de soja (que contiene una pequeña cantidad de hidrato de carbono natural) cloruro de sodio, agar y sangre.

Ciertas bacterias producen enzimas extracelulares que lisan los eritrocitos en el agar (hemólisis) esta actividad puede producir una eliminación completa de los eritrocitos alrededor de la colonia bacteriana (betahemólisis) o sólo una lisis parcial de las células para provocar manchas de color verdoso (alfahemolíticas). Otras bacterias no tienen efecto sobre los eritrocitos no se produce halo alrededor de la colonia (gama hemólisis o ausencia de hemólisis).

Los microbiólogos a menudo utilizan la morfología de la colonia y el grado o ausencia de hemólisis como criterios para determinar qué pasos adicionales se requiere para la identificación de un aislamiento bacteriano. Para leer con presión la reacción hemolítica sobre una placa de agar sangre el técnico debe sostener la placa hacia la luz y observarla con una luz que provenga de atrás (luz transmitida).

PRUEBAS BIOQUIMICAS

Las pruebas o ensayos bioquímicos, son pruebas simples que se han desarrollado para demostrar en forma clara una determinada característica bioquímica como presencia o ausencia de una determinada actividad enzimática, grupo de enzimas o determinada vía metabólica, crecimiento a una determinada

temperatura, crecimiento en presencia de inhibidores, etc. No significan de ninguna manera un estudio profundo del metabolismo bacteriano.

1. Para llevarlas a cabo, se pueden utilizar diferentes sistemas de trabajo (medio de cultivo, indicador, revelador, etc.) que puede ser diferente aún para el mismo ensayo si se trata de diferentes microorganismos. Por ejemplo se debe suplir con factores de crecimiento el medio de cultivo para estudiar la fermentación de distintos azúcares cuando se sabe que el microorganismo en estudio es exigente (14)

Pruebas bioquímicas que se realizan en secreción vaginal

BACTERIAS GRAM POSITIVAS

a) Enzimas vinculadas con la respiración

PRUEBA DE LA CATALASA Y PEROXIDASA.

El Objetivo es buscar la presencia de la enzima catalasa. El peróxido de hidrógeno se produce al utilizar la bacteria el azúcar por vía oxidativa. Al ser éste un compuesto muy oxidante las bacterias la eliminan mediante la producción de la enzima catalasa (H_2O_2 -> H2O + ½ O_2).

Una prueba de rutina de la catalasa a temperatura ambiente puede hacerse siguiendo dos técnicas:

- ✓ Método del portaobjetos (recomendado)
- ✓ Método del tubo de ensayo:

La prueba se considera como positiva si observamos burbujas de oxígeno.

Resultados:

(+) *Staphylococcus aureus*
(-) *Streptococcus spp.*

PRUEBA DE LA COAGULASA

La coagulasa es una enzima producida por *S. aureus,* es relativamente estable al calor, resiste temperaturas arriba de 60C por 30 minutos. Algunos microbiólogos establecen que la coagulación del plasma ocurre en 2 etapas:

Hay una reacción entre la enzima producida por la bacteria, una porción coagulasa, con un factor o activador presente en el plasma para producir la coagulasa. La coagulasa real del plasma es activada por la coagulasa (bacteria).
La prueba de la coagulasa es usada específicamente para diferenciar las especies del género:

staphylococccus: *S. aureus* (Positiva)
S. epidermidis (Negativa)

Esta prueba bioquímica se puede hacerse siguiendo dos técnicas:

- Técnica en portaobjetos
- Técnica en tubo

Interpretación.

- *Prueba positiva:* Coagulo completo, o Coagulo parcial, el coagulo no abarca completamente la columna del fluido.
- *Prueba negativa:* No hay formación de coagulo, la suspensión permanece homogénea.

b) Pruebas de sensibilidad

Las pruebas de sensibilidad utilizan una característica de los microorganismos frente a una sustancia química o antimicrobiana que consiste en la sensibilidad o resistencia

constante frente a dicha sustancia, lo cual nos puede permitir confirmar o descartar la presencia del microorganismo. Las pruebas de susceptibilidad más utilizadas son:

- Sensibilidad a Novobiocina
- Sensibilidad a Optoquina
- Sensibilidad a Bacitracina
- Sensibilidad a Metronidazol y Sulfatiazol

PRUEBA DE LA SENSIBILIDAD A LA NOVOBIOCINA.

Los *Staphylococos* coagulasa negativos pueden diferenciarse en dos grupos, según sean sensibles o no la novobiocina. (5ug). *S. epidermidis* es sensible, mientras que *S. saprophyticus* no lo es.

INTERPRETACION.

Se considera *Staphylococos* sensible a la novobiocina cuando el halo de inhibición de crecimiento sea superior a 16 mm (26).

BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

a) Fuente única de carbono

PRUEBA DE CITRATO

Esta prueba sirve para determinar si un microorganismo es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono para su metabolismo. El medio utilizado para la fermentación del citrato contiene sales de amonio inorgánicas, Si un microorganismo es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono para su metabolismo, utiliza también las sales de amonio como su única fuente de nitrógeno. Las sales de amonio se desdoblan en amoniaco (NH_3) provocando la alcalinidad del medio y el viraje hacia un color azul intenso.

Interpretación

Color inicial: azul claro

- Prueba positiva*:* Azul intenso. Géneros con prueba positiva: *Klebsiella,* algunos *Proteus*
- Prueba negativa: Verde claro, azul claro. (-) *Escherichia Coli* (17).

b) Ensayos combinados

PRUEBA DEL KLIGLER Y TSI (TRIPLE AZÚCAR HIERRO)

Determina la capacidad de un organismo de utilizar un hidrato de carbono específico incorporado a un medio de crecimiento básico con producción o no de gas u de SH_2.

El agar hierro de Kligler y el agar triple azúcar (TSI) son medios diferenciales mixtos en tubo, en los que se puede determinar las fermentaciones de los hidratos de carbono, la producción de gas y la producción de SH_2. El medio de Kligler contiene dos hidratos de carbono: lactosa y glucosa. El medio TSI lleva, además de estos dos azucares, sacarosa. Los fundamentos bioquímicos son los mismos en el Kligler que en el TSI.

En este test se observan:

- La desintegración de los aminoácidos azufrados (cistina, cisteina, metatión, etc.) se detecta por el desprendimiento de SH_2 que se traduce por un ennegrecimiento del medio debido a la formación de un sulfuro metálico, al reaccionar el SH_2 con una sal de hierro.
- La fermentación de la lactosa se observa por el viraje de la parte superior del tubo inclinado.

- La fermentación de la glucosa se observa solamente por el viraje de la parte inferior debido a que la pequeña cantidad de glucosa se consume rápidamente en la superficie que se realcaliniza por el ataque a la peptona (en caso de lactosa -) Esta fermentación puede estar acompañada con producción de gases o no (H_2 y CO_2) que se observa por la formación de burbujas o ruptura del medio.

Interpretación

1. **Fermentación sólo de glucosa:**

- En la zona inclinada reacción alcalina: rojo.
- *En la zona profunda reacción ácida:* amarillo.

La fermentación alcalina/ácida se observa en aquellos organismos capaces de fermentar solamente la glucosa, la zona inclinada es alcalina (roja) lo que indica degradación aeróbica de la glucosa ya que la concentración de glucosa en el medio (0,1%) es baja y el organismo la ha consumido y empieza a utilizar las peptonas como nutrientes para su crecimiento, esta utilización de la peptona produce liberación de NH_3 dando pH alcalino con el rojo de fenol incorporado al medio.

En la capa profunda del medio se observa color amarillo debido a la fermentación anaeróbica de la glucosa, con formación de productos terminales ácidos estables y por lo tanto pH ácido (amarillo).

2. **Fermentación de la glucosa y de la lactosa:**

- En la zona inclinada reacción ácida: amarillo
- En la zona profunda reacción ácida: amarillo.

La lactosa se encuentra en una concentración del 1% (10 veces más que la glucosa) por lo que en el período de incubación 18-24 horas, ésta lactosa no se habrá consumido y la reacción permanecerá ácida.

3. **No fermentación de la glucosa ni de la lactosa:**

- En la zona inclinada reacción alcalina: rojo.
- En la zona profunda: si el organismo es aeróbico no hay crecimiento y no hay cambio de color.
- Si el organismo es facultativo hay reacción alcalina: color rojo.

Existen bacterias que no fermentan ni lactosa ni glucosa, consiguiendo los nutrientes de la peptona que contiene el medio. Si la zona inclinada es alcalina y la zona profunda alcalina, se trata de un organismo que degrada la peptona tanto aeróbica como anaeróbicamente. Si la zona inclinada es alcalina y la zona profunda sin cambio, es un organismo que sólo utiliza la peptona aeróbicamente. Cuando las peptonas son degradadas se produce un pH alcalino por la liberación de NH que da al medio un color rojo intenso.

d) Producción de gas:

- Formación de una o varias burbujas.
- Desdoblamiento del medio.
- Desplazamiento del medio.
- Ligera muesca en el lateral del tubo.

d) Producción de SH_2:

- Color negro por toda la capa profunda que oculta la acidez.
- Anillo negro en la parte superior de la zona profunda.
- Precipitado negro en la zona profunda pero que no oculta totalmente la acidez

PRUEBA DEL H_2S

Determinar si se ha liberado enzimáticamente ácido sulfhídrico (SH_2) gaseoso a partir de los aminoácidos azufrados para producir una reacción coloreada visible, negra, en presencia de un sistema indicador de H_2S, la enzima responsable de esta actividad, es la cisteinasa. Tiene como objetivo ayudar en la diferenciación e identificación de especies de enterobacterias. Se utilizan medios que contengan

aminoácidos sulfurados como: agar KLINGER, TSI, SIM al medio dejar solidificar en pico de flauta o recto.

INTERPRETACIÓN.

- Positivo: Cualquier ennegrecimiento del medio a lo largo de la línea de siembra, o en todo el fondo.
- Negativo: Ausencia de ennegrecimiento (21).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III. METODOLOGÍA

TIPO DE ESTUDIO

- La presente investigación es un estudio descriptivo de tipo transversal, el mismo que se realizó en mujeres trabajadoras sexuales que acuden a la consulta ginecológica del Centro de Salud № 1 de la ciudad de Loja.

ÁREA DE ESTUDIO

- Este trabajo se realizó en el Centro de Salud № 1 de la ciudad de Loja.

UNIVERSO

- Estuvo conformado por las mujeres trabajadoras sexuales que acudieron a la consulta ginecológica del Centro de Salud № 1 de la ciudad de Loja

MUESTRA

- Se analizó 100 muestras de secreción vaginal de mujeres trabajadoras sexuales que acudieron a la consulta ginecológica del Centro de Salud № 1 de la Ciudad de Loja.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Se incluyó a todas las mujeres trabajadoras sexuales que quisieron formar parte de mi investigación y que acudieron a la consulta ginecológica del Centro de Salud № 1 de la ciudad de Loja.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se excluyó a las pacientes que acudan a la consulta ginecológica por las siguientes razones:

- ✓ No accedieron a realizarse el examen
- ✓ Estaban en tratamiento con antibióticos
- ✓ Mujeres menstruando
- ✓ Mujeres con previo aseo genital
- ✓ Mujeres embarazadas

TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

1. **Desarrollo de la fase pre-analítica:**

   - Autorización del Centro de Salud №1 de la ciudad de Loja. (ANEXO № 1)
   - Registro inicial de datos del paciente. (ANEXO № 2)
   - Toma de muestra de secreción vaginal (ANEXO № 3).
   - Toma y conservación de muestras.

2. **Desarrollo de la fase analítica:**

   - Determinación del examen en fresco (ANEXO № 4)
   - Determinación de Gram (ANEXO № 5).
   - Cultivo bacteriano Pruebas bioquímicas. (ANEXO № 6).

3. **Desarrollo de la fase Post - analítica:**

   - Registro de resultados.(ANEXO № 7)
   - Certificación del Centro de Bioanálisis "Alfa" (ANEXO № 8)
   - Trabajo de campo (ANEXO № 9)

PLAN DE TABULACION Y ANALISIS DE DATOS

Se tabularon, los datos numéricamente en porcentajes con los que se constituyeron tablas de frecuencias simples.

Luego se analizaron los resultados, comparando con la teoría de los autores para luego plantear mi criterio, con los cuales se formularon las conclusiones, recomendaciones y propuesta de intervención.

IV. RESULTADOS

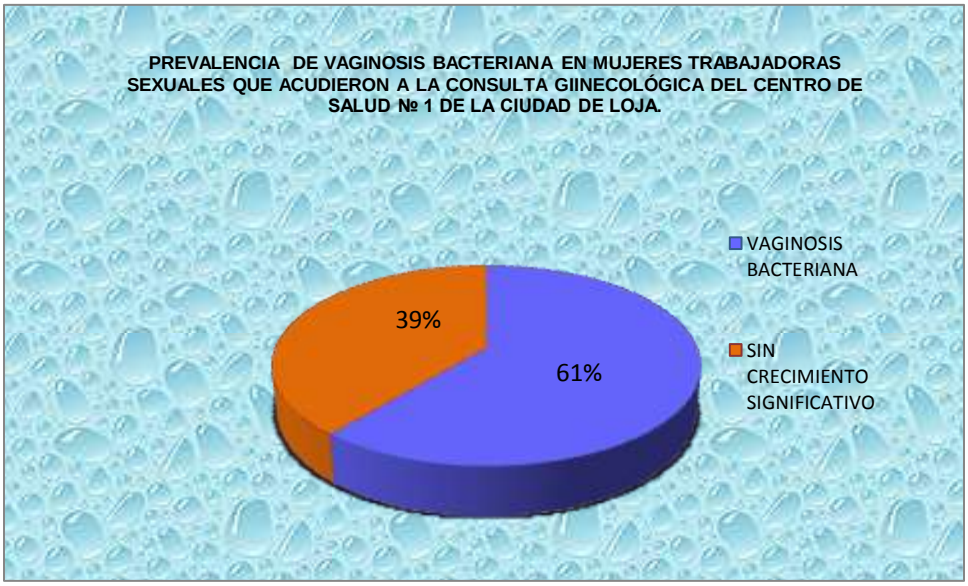
VI. RESULTADOS

"PREVALENCIA DE VAGINOSIS BACTERIANA EN MUJERES TRABAJADORAS SEXUALES QUE ACUDIERON A LA CONSULTA GINECOLÓGICA DEL CENTRO DE SALUD № 1 DE LA CIUDAD DE LOJA"

Tabla N° 1

PACIENTES	FRECUENCIA	PORCENTAJE
VAGINOSIS BACTERIANA	61	61%
SIN CRECIMIENTO SIGNIFICATIVO	39	39%
TOTAL	**100**	**100%**

GRÁFICO № 1



Fuente: Registro del Laboratorio " Alfa" de la ciudad de Loja.

Elaboración: Alexandra España.

INTERPRETACIÓN:

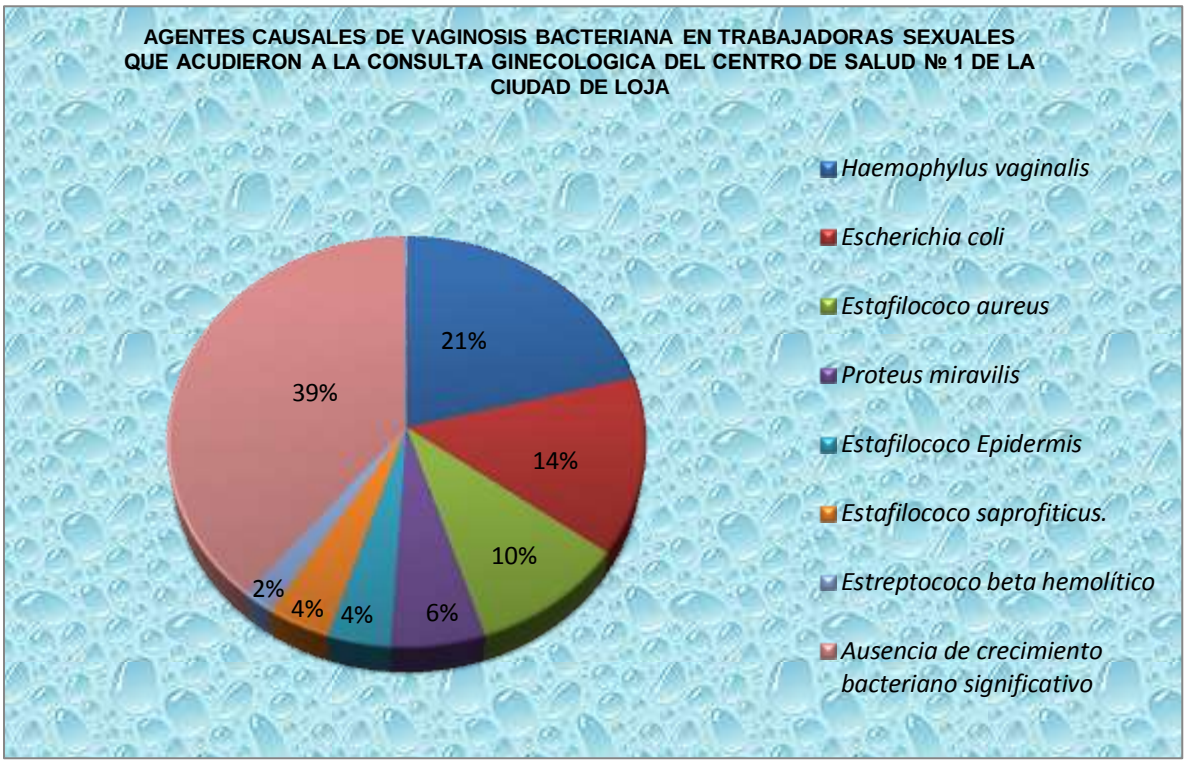
En la presente tabla y gráfico, se puede observar que de las 100 muestras de trabajadoras sexuales analizadas que representan el 100%, 61 muestras que corresponden al 61% presenta una prevalencia de vaginosis bacteriana causada por diferentes agentes bacterianos; mientras que 39 muestras que corresponden al 39% de pacientes sanas no presentaron crecimiento bacteriano significativo.

AGENTES CAUSALES DE VAGINOSIS BACTERIANA EN MUJERES TRABAJADORAS SEXUALES QUE ACUDIERON A LA CONSULTA GINECOLOGICA DEL CENTRO DE SALUD № 1 DE LA CIUDAD DE LOJA.

TABLA N°2

AGENTES CAUSALES	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Haemophylus vaginalis	21	21%
Escherichia coli	14	14 %
Estafilococo aureus	10	10 %
Proteus miravilis	6	6 %
Estafilococo epidermis	4	4 %
Estafilococo saprofiticus.	4	4 %
Estreptococo beta hemolítico	2	2 %
Ausencia de crecimiento bacteriano significativo	39	39 %
TOTAL	**100**	**100 %**

GRÁFICO № 2



Fuente: Registro del Laboratorio " Alfa" de la ciudad de Loja.

Elaboración: Alexandra España

INTERPRETACIÓN:

En la presente tabla y gráfico, se puede observar que de las 100 muestras de trabajadoras sexuales analizados que representan el 100%, los agentes causales de vaginosis bacteriana son: *Haemophylus vaginalis* con el 21% el agente bacteriano de mayor incidencia en las trabajadas sexuales, asociados con otros agentes bacterianos como el *Escherichia coli* con el 14 %, *Estafilococo aureus* con el 10 %, *Proteus miravilis* con el 6 %, *Estafilococo Epidermis* con 4 %, *Estafilococo saprofiticus* con el 4%, *Estreptococo beta hemolítico;* y con el 2 % una ausencia de crecimiento bacteriano significativo en las pacientes sanas.

V.DISCUSIÓN

V. DISCUSIÓN

La frecuencia de vaginosis bacteriana varía de acuerdo al grupo poblacional; en trabajadoras sexuales está entre 13 a 71% según diversos estudios a nivel mundial (9). Sin duda las infecciones de genitales representan en todo el mundo un alto índice de consulta en la mayoría de las instituciones que prestan los servicios de salud. Estas infecciones pueden ser causadas por diversas entidades, desde bacterias aerobias y anaerobias, hongos, virus y parásitos; algunos de estos pueden o no ser transmitidos sexualmente. Los aspectos socio-culturales y el grado de escolaridad son determinantes en la conducta sexual y en el riesgo de contraer vaginosis bacteriana e infecciones de transmisión sexual. La flora aerobia y anaerobia de la vagina puede colonizar e infectar el tracto genital superior entre las bacterias facultativas (aerobias) se incluyen como más frecuentes *E.coli,* especies de *Streptococcus* y *G. vaginalis* (23).

Siendo las infecciones bacterianas a nivel vaginal un problema de salud pública a nivel mundial, se han hecho varios estudios epidemiológicos tal como el hecho en el Hospital de Armenia (Colombia), publicado por QB. Salas y otros en el 2009 en donde se analizaron 230 mujeres sexualmente activas y trabajadoras sexuales; se determinó una prevalencia de infección vaginal de 90,4% por vaginosis bacteriana; que al comparar con los resultados obtenidos de presente investigación se concluyó que existe una incidencia alta en ambos estudios, y la diferencia en cuanto al porcentaje podría ser el número de pacientes analizadas. En cuanto a los agentes causales, en el mismo estudio se encontraron los siguientes agentes causales en un 32% de las 90 pacientes con infección bacteriana, ésta fue causada por cocobacilos gram variable tipo *G. vaginalis* (29 casos), seguido por *Difteroides* en un 30% (27 casos), 10% por cocobacilos gram negativos (9 casos), 6,6% por bacilos gram negativos (6 casos), 3,3% por cocobacilos gram positivos (3 casos) y 2% por *Mobiluncus* (2 casos).

Spence en el año 2007 concluye que en estudios realizados a nivel mundial se ha encontrado que el 90% de las infecciones son causadas por tres grupos de agentes etiológicos: bacterias anaerobias que producen vaginosis, hongos y infección por protozoarios; siendo la vaginosis bacteriana la más frecuente y tiene como agentes causales bacterias que sustituyen la flora normal de *Lactobacillus acidophilus*, tales como *Mobiluncus spp, Prevotella spp, Mycoplasma hominis* o *G. vaginalis* (34).

En un estudio realizado en el Hospital Provincial de Cotopaxi de Dora Montenegro sobre vaginosis bacteriana en donde incluyó 150 pacientes con vida sexual activa y trabajadoras sexuales, se determinó que la mayoría fueron pacientes portadoras asintomáticas. Los gérmenes comunes causantes de Vaginosis bacteriana fueron: *E. coli, S. albus y G. vaginalis* (31)., mientras que en estudio realizado en nuestro medio se determinó los siguientes agentes patógenos presentes en la vaginosis bacterina de las trabajadoras sexuales *H. vaginalis, E. coli, S. aureus, P. miravilis, S. epidermis, S. saprofiticus, S. beta hemolítico*.

Como evidencia ante este problema en el presente estudio se determinó una prevalencia de vaginosis bacteriana en 100 trabajadoras sexuales del Centro de Salud No. 1 de la ciudad de Loja del 61%, una tasa elevada que correspondería al comportamiento de alto riesgo del grupo poblacional estudiado que está dentro de los rangos de prevalencia a nivel mundial. Algunos estudios han asociado la presencia de vaginosis bacteriana con las trabajadoras sexuales, otros relacionan ciertos factores asociados a la afección como el número de parejas sexuales, no tener pareja sexual estable y actividad sexual temprana; características frecuentes en trabajadoras sexuales, y también se atribuye este alto nivel, al poco uso de preservativo, falta de higiene luego de la relación sexual que debería ser norma general en la actividad sexual de estas personas. La elevada frecuencia de vaginosis bacteriana en esta población en particular, debe ser tomada en cuenta, más aun si consideramos a la vaginosis bacteriana como un cofactor predisponentes para las infecciones virales y otras enfermedades relacionadas.

Después de haber analizado los resultados obtenidos en este trabajo de investigación se puede definir que realmente existe una concordancia en cuanto a la prevalencia de vaginosis bacteriana tanto en el Centro de Salud que fue lugar de este estudio, como de datos que corresponden a otros lugares donde la vaginosis bacteriana es una de las principales afecciones de las mujeres trabajadoras sexuales, en esta investigación se encontró los siguientes agentes causales: *H. vaginalis* con el 21%, *E. coli* con el 14 %, *S. aureus* con el 10 %, *P. miravilis* con el 6 %, *S. epidermis* con 4 %, *S. saprofiticus* con el 4%, *S. beta hemolítico* con el 2 % y ausencia de crecimiento bacteriano significativo con el 39 %., Comprobando que el *H. vaginalis* en nuestro medio es el germen etiológico de esta alteración vaginal, sin embargo es importante recalcar que existen otros gérmenes bacterianos que están asociados como causantes en menor porcentaje de vaginosis bacteriana, de la misma manera es importante mencionar que la prevalencia de la vaginosis bacteriana en lo que respecta a índices de años anteriores en el mismo lugar de estudio no ha disminuido sigue fluctuando en los mismos niveles porcentuales.

Finalmente radica aquí la importancia de realizar estudios de prevalencias de vaginosis bacteriana trabajadoras sexuales en nuestra ciudad, lo que permitirá obtener estudios muy importantes para el área de epidemiología ya que existe una marcada diferenciación con los resultados expuestos en investigaciones realizadas en otros países con situaciones ambientales, culturales, sociales, económicas y estilo de vida diferentes a las nuestras.

VI. CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

Una vez terminada la presente investigación Titulada “Prevalencia de Vaginosis bacteriana en mujeres trabajadoras sexuales que acuden a la consulta ginecológica del Centro de Salud № 1 de la Ciudad de Loja, se establece las siguientes conclusiones:

- La prevalencia de vaginosis bacteriana en trabajadoras sexuales que acuden al Centro de Salud No. 1 de la ciudad de Loja es del 61%.

- Se llegó a determinar que del 61% de vaginosis bacteriana presentada en las trabajadoras sexuales del Centro de Salud N° 1 de la Ciudad de Loja, el agente patógeno de mayor prevalencia es el *Haemophylus vaginalis* con un 21 %.

- Se concluyó que los agentes causantes de vaginosis bacteriana más comunes en nuestro medio son*: Haemophylus vaginalis, Echerichia coli, Estafilococo aureus, Proteus miravilis, Estafilococo epidermis. Estafilococo saprofiticus, Estreptococo beta hemolítico.*

VII. RECOMENDACIONES

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar campañas de difusión con respecto al uso de métodos de protección, que ayuden a disminuir el riesgo de adquirir enfermedades de transmisión sexual, dirigidas por el Ministerio de Salud Pública y otros organismos de Salud.

- Dar a conocer a los grupos de riesgo como son las trabajadoras sexuales través de charlas y conferencias, que la vaginosis bacteriana no solo se adquiere por contacto sexual, sino que existen otras causas como: malos hábitos de higiene, excesiva actividad sexual, múltiples compañeros sexuales, inadecuada utilización de preservativo, utilización de anticonceptivo intravaginales, y presencia de cuerpos extraños.

- Se recomienda realizar este tipo de estudio no solamente en nuestra ciudad, sino también en la provincia y en el resto del país, para contar con una base de datos más amplia en lo que se refiere a la determinación de vaginosis bacteriana en trabajadoras sexuales.

- Se recomienda que el estudio de la infección cérvico vaginal se haga con cuidado, asociando los datos clínicos con los hallazgos microbiológicos de la secreción, con el objeto se instaurar un tratamiento temprano y adecuado, para prevenir las posibles complicaciones.

BIBLIOGRAFÍA

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Balcells Alfonzo.** *La clínica y el laboratorio*. Estudio del flujo vaginal. Capítulo 12. 20.ª Edición. Editorial Elsevier Barcelona 2010. Pago. 265, 266, 267.

2. **Berek Jonathan S. Md. MMMSC.** *Ginecología de Novak.* Infecciones genitourinarias y enfermedades de transmisión sexual. Capítulo 15. Pág. 371, 372,
3. **Botero J. Dr., Júbiz A. Dr. Henao G. Dr.** *Obstetricia y Ginecología.* Texto integrado. Séptima Edición. Impreso Quebecor Wordl-Bogota. Febrero 2004.Pág. 18, 19.

4. **Cuppett Micki, Katie M Walsh.** *Medicina general aplicada al deporte.* Editor Elsevier Capitulo 7.Enfermedades genitourinarias y ginecológicas. España, 2007 Pág. 162, 163.

5. **Forbes Betty A.** *Diagnostico Microbiológico*. Parte II. Principios Generales de Microbiología. 12va Edición. Editorial Médica Panamericana, 2009. Capitulo 7. Cultivos e Identificación tradicional. Pág. 98, 99.

6. **Fenollera AF, Marin LL.** *Citopatología Ginecológica y Mamaria.* 2 ed. Barcelona: Ediciones científicas y técnicas S.A., 1993. 563p.(215-235) 2008.Traducido por: Fabián Benencia. Capitulo 22. Pág. 968, 969, 970.

7. **Gates Robert H.** *Secretos de las enfermedades infecciosas*. Células clave. 2 da Edición, ilustrada Editor Elsevier España, 2004 pág. 246, 247, 248, 249.

8. **Gamazo C., López I. Goñi R. y Díaz A.** *Manual práctico de microbiología*. Tercera edición. Editorial Elsiever España, 2005 Capítulo III. Métodos de Microbiología General. Pág. 20.

9. **García Rodríguez José Ángel.** *Microbiología Médica*. Infecciones en la embarazada. Infecciones en obstetricia y ginecología Edición ilustrada. Editor Elsevier. España, 2004. Pag.351.

10. **Gori Jorge. Lorusso Antonio.** *Ginecología de Gori*. Fisiología genital femenina. Capítulo 3. Segunda edición. Editorial Ateneo. Argentina 2005. Pág. 49. 50.

11. **Guarnizo R. Mónica, Jaramillo C. Diana.** BQ. ***"****Incidencia De Vaginosis Y Vaginitis, Y Determinación De Los Agentes Etiológicos más Frecuentes En Mujeres De Edad Fértil Sintomáticas Y Asintomáticas Que Acuden A Consulta Externa Del Hospital Regional Isidro Ayora De La Ciudad De Loja, Durante El Período Abril-Julio De 2009"* .UTPL. Pág. 3, 4, 5, 6.

12. **Kelley William N.** *Medicina interna.* Síndrome de vaginitis. Volumen 1. Edición 2, Editor Ed. Médica Panamericana, 2003. Enfoque y tratamiento de enfermedades infecciosas. Pág., 1771, 1772.

13. **Koneman Elmer W.** *Diagnóstico microbiológico*: Texto y atlas color. Pruebas de identificación bacteriana. Editorial Médica Panamericana.

14. **Manual de técnicas básicas para un laboratorio de Salud.** Organización Panamericana de la Salud. Publicación científica número 439. Reimpresión Año 2006. Pág. 186, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241.

15. **Mota S. A., Di Pietrantonio V.** *Vaginosis bacteriana*: Aspectos Colposcópicos. Revista Obstetricia y Ginecología. Venezuela. 2008. Pág. 68(2):87-91.

16. **Ortiz R. C. Ley N. M., Llorente A. C. Almanza M. C.,** *Vaginosis bacteriana en mujeres con leucorrea.* Revista Cubana obstetricia y ginecología. Cuba 2009. Pág.26 (2): 74-81.

17. **Patrick R. otros.** *Microbiología Médica.* Versión en español de la 5ta edición de la obra en inglés. Editorial Elsevier España, Capítulo 39. Flora microbiana comensal y patógena en el ser humano. Año 2007; Pág. 86.

18. **Quevauvilliers J. Perlemuter L.** *Diccionario de enfermería.* Enciclopedia práctica. Editor Elsevier, Masson. Barcelona España. Segunda edición. Reimpresión 2007. Pág. 473, 474.

19. **Rodríguez E., Gamboa Ma., Hernández F, García D.,** *Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio.* Editorial Universidad de Costa Rica, 2005. Sección III. Pág. 63, 64.

20. **Tatti.** Colposcopia y Patologías Del Tracto Genital Inferior. Infecciones no virales del tracto genital inferior. Infecciones bacterianas, Vaginosis Bacteriana. Editor Ed. Médica Panamericana. 2008. Pág. 40.

21. **Tortora G. Funke B. Case C.** *Introducción a la microbiología*. Pruebas bioquímicas. 9na Edición. Editorial. Médica Panamericana, 2007. España. pág.292.

22. **Sucari A.,** *Vulvovaginitis y vaginosis bacteriana*. Importancia del Diagnóstico Microbiológico. MedLab. 2008. Pág. 2(4):1-4.

23. **Usandizaga B. J., Fuente P. P.** *Tratado de Obstetricia y Ginecología.* Volumen II. Ginecología. Infecciones genitales. Capítulo 6. Segunda Edición. Editorial McGraw-Hill. Interamericana. España 2005. Pág. 225, 226, 227, 228, 230, 231, 234, 235.

24. **Van Dyck E., Meneus A.Z. y Piot P.** *Diagnóstico de laboratorio de enfermedades de Transmisión Sexual*, 5ta Edición. Ginebra- Suiza. Año 2005. Pág. 78, 83.

25. **Zitelli, B.J.** Atlas de diagnóstico mediante exploración física en pediatría. Edición. Editorial España, 2009. Capítulo 8. Dermatología por *Candida.* Pág. 293.

26. **Zaragoza Rafael.** Microbiología aplicada al paciente critico. Ed. Médica Panamericana, 2007. Técnicas de identificación. López J. Castillo F. Salvet M. Pág. 27.

INTERNET

27. **Alvis Nelson, Mattar Salim, García, Jair. Conde Edwin, Díaz Alberto** I*nfecciones de Transmisión Sexual en un Grupo de Alto Riesgo de la Ciudad de Montería, Colombia.* Disponible en: http://www.scielosp.org/pdf/rsap/v9n1/v9n1a09.pdf. Recibido: febrero 28/10 – Aceptado: abril 3/10.

28. **Cuevas Aura, M.D., Celis Cuauhtemoc, M.D., Herrán Santiago, M.D., Hernández Imelda, M.D., Paredes Osiris, M.D., Paradas Alejandro, M.D.** *Higiene íntima femenina y vaginosis bacteriana***.** Disponible en: http://www.fecolsog.org/userfiles/file/revista/Revista_Vol61No3_Julio_Septiembre_2010/v61n3a03.pdf. Encuesta Epidemiológica Latinoamericana 2008 Recibido: octubre 22/09 – Aceptado: agosto 26/10.

29. **Fernández Jorge' Martínez Andrés, Castillón Rubén, Tamariz Jesús.** *Vaginosis bacteriana en trabajadoras sexuales que acuden a un centro especializado de referencias de enfermedades de transmisión sexual y SIDA.* Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1018-130X2010000100006&script=sci_arttext. Correo electrónico: jesus.tamariz@upch.pe Revista Médica Heredian. v.21 n.1 Lima ene. 2010 Atlas de Its.

30. **Hernández Sandra Nesvara Imai, Torres Carolina, Pereda Cristian, Hernández Enrique.** *Incidencia de ETS y factores sociales en las trabajadoras sexuales en c ntrol sanitario en el Consultorio N°1*. Revista Chile Salud Pública 2006; Volumen 10 (2):79-84. Correo electrónico a revistasp@med.uchile.cl

31. **Montenegro Rojas Dora.** *Vaginosis bacteriana en el Hospital Provincial de Cotopaxi.*

32. **Müller Edith Ángel-.** Frecuencia de infecciones.

33. **Salas Natalia, Biol. Ramírez Juan Felipe, Biol. Ruiz Bayron M.D., Torres Elizabeth, Bact., Nevio Jaramillo Luis, Bact., Gómez-Marín Jorge Enrique, M.D.** *Prevalencia De Microorganismos Asociados A Infecciones Vaginales En 230 Mujeres Gestantes, No Gestantes Y Grupo De Riesgo Sintomáticas Del Centro De Salud La Milagrosa En El Municipio De Armenia (Colombia)***.** Disponible en: http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=195214328003 Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología Vol. 60 No. 2 • 200*9.* Recibido: febrero 28/09 – Aceptado: abril 3/09.

34. **Spence D, Mellville C.** Vaginal discharge. BMJ 2007; 335:1147-51.

35. **Luis S. Espinoza Paul.** *Estudio De Diagnostico De Opiniones, Percepciones, Actitudes, Conocimientos Y Comportamientos De Trabajadores Sexuales De 12 A 24 Años.* Disponible en: http://www.care.org.pe/websites/fondomundial/cerrandobrechas/pdfsestudios/vih1a_1_4/8.diagnosticotrabajadoressexuales/estudio%20de%20diagnostico%20de%20trabajadores%20sexuales.pdf. lima, julio del 2007.

ANEXOS

INDICES DE ANEXOS.

CONTENIDO

- **Anexo № 1** Autorización del Centro de Salud № 1 de la ciudad de Loja.
- **Anexo № 2** Registros de la recolección de datos del paciente.
- **Anexo № 3** Protocolo de toma de muestra de secreción vaginal
- **Anexo № 4** Protocolo determinación del examen en fresco
- **Anexo № 5** Protocolo Tinción de Gram
- **Anexo № 6** Protocolo de cultivos bacterianos y pruebas bioquímicas
- **Anexo № 7** Registro de resultados obtenidos.
- **Anexo № 8** Certificación del Centro de Bioanalisis "Alfa"
- **Anexo № 9** Trabajo de Campo

ANEXO № 1

AUTORIZACIÓN DEL CENTRO DE SALUD № 1 DE LA CIUDAD DE LOJA.

Loja, 08 de julio del 2010

Doctora
Mafalda Montesinos.
JEFA DEL ÁREA DE SALUD Nro. 1 (E).

Ciudad.-

De mis consideraciones:

Yo, Alexandra España Arboleda egresada de la carrera de Laboratorio Clínico me dirijo a usted, para solicitarle muy comedidamente el permiso para realizar en este prestigioso centro de salud la toma de muestra de secreción vaginal para desarrollar el trabajo de investigación de la tesis titulada: **"PREVALENCIA DE VAGINOSIS BACTERIANA EN MUJERES TRABAJADORAS SEXUALES QUE ACUDEN A LA CONSULTA GINECOLÓGICA DEL CENTRO DE SALUD N° 1 DE LA CIUDAD DE LOJA"**

Esperando que la presente solicitud, tenga una acogida favorable, le reitero mi más sincero agradecimiento de consideración y estima.

ATENTAMENTE

Dalia Alexandra España A|

ANEXO № 2

Registro de recolección de datos del paciente

№ DE PACIENTE	EDAD	FECHA DE TOMA DE LA MUESTRA	HISTORIA CLÍNICA	PROCEDENCIA	№ DE MUESTRA	EXAMEN A REALIZAR

ANEXO № 3

PROTOCOLO TOMA DE MUESTRA SECRECÓN VAGINAL

Preparación de la paciente:

Indicar a la paciente que no debe realizarse con ducha vaginal ya que puede haber un desplazamiento transitorio de la flora e indicar abstinencia sexual por 48 horas previas a la toma de muestra, ya que el pH alcalino del semen interfiere en la medición del pH vaginal y produce una alteración transitoria de la flora vaginal.

Toma de la muestra:

La muestra se recolecta con especulo del fondo del saco vaginal ‘(excepto en niñas y mujeres vírgenes donde la muestra se recolecta sin especulo) es sumamente importante recolectar una muestra en solución fisiológica para la observación en fresco y realizar un extendido para la coloración de Gram. Previo a la recolección de muestra de endocervix, hay que eliminar el exceso de flujo vaginal.

MATERIAL NECESARIO

- Camilla ginecológica
- Hisopos
- Tubos con corcho
- Tubo con 1 ml de suero fisiológico
- Pipeta
- Puntas descartables.
- Placas porta objetos
- Lápiz graso

Condiciones previas:

La paciente no debe tomar antibióticos No debe de realizarse lavados vaginales previos a la realización del examen.

El examen microscópico comprende:

- Examen en fresco
- Coloración de Gram
- Cultivo y pruebas bioquímicas.

ANEXO № 4

PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DEL EXAMEN EN FRESCO

El examen en fresco del flujo vaginal permite observar el organismo en movimiento rodeado de abundantes glóbulos blancos. El examen secreción vaginal nos permitirá observar la presencia de Células epiteliales; células “clave o guía”; Piocitos; hematíes; bacterias; levaduras, esporas e hifas de hongos, y parásitos como Tricomonas Vaginal

Materiales

- Placa porta objetos
- Lámina cubreobjetos
- Pipeta y puntas descartable
- Microscopio

Sustancias

Suero fisiológico

Procedimiento

- ✓ Colocar en la placa porta objetos una gota de secreción vaginal disuelta en suero fisiológico
- ✓ Colocar el cubre objetos
- ✓ Llevar al microscopio para observar
- ✓ Observar al microscopio inmediatamente
- ✓ La validación de esta prueba se la realiza mediante la observación en el microscopio en el objetivo 40X.

De la muestra que está en el tubo de ensayo se coloca una gota en una placa porta objetos y la cubrimos. Llevamos al microscopio y observamos con lente de 40x.

ANEXO № 5

PROTOCOLO TINCIÓN DE GRAM

El empleo de la solución y del método de la tinción de Gram es de enorme importancia bacteriológica y ha permitido clasificar morfológicamente a las bacterias en dos grupos que facilitan su estudio.

- Bacterias Gram positivas
- Bacterias Gram negativas

Materiales para la tinción de Gram

- **Violeta de genciana:** Violeta de genciana 1g; Ácido fénico 25g; Alcohol absoluto 10ml y Agua destilada 100ml.
- **Lugol o Yodo: Yodo** 1g; Yoduro potásico 2g; y Agua destilada 300ml.
- **Alcohol Acetona:** Alcohol de 96° 70ml; y Agua Destilada 300ml
- **Safranina o Fucsina:** Fucsina de Zhiel 10 ml y Agua destilada 90ml.

NOTA: Todos y cada uno de los componentes indicados para cada colorante se mezclan y se usan en las tinción de Gram.

PROCEDIMIENTO

Fijar un frotis

- Con la ayuda de un mechero, flamear un asa bacteriológica y esperar que enfríe un poco.
- Tomar el asa (previamente flameada) y con ésta tomar un poco de muestra.

Una vez obtenida una pequeña cantidad de la muestra (con el asa), hacer que ésta tenga contacto con una lámina portaobjetos, la cual servirá para depositar la muestra contenida en el asa.

- Con el asa (conteniendo la muestra) sobre la lámina portaobjetos, proceder a realizar la extensión de la muestra en el portaobjetos mediante movimientos giratorios (dar vueltas con el asa) sobre la lámina, de tal forma que al terminar la extensión, tengamos como producto una espiral en la parte media de la lámina.

- Esperar que seque al aire libre o ayudarse con la llama de un mechero para fijar la muestra, teniendo en cuenta que el calor no debe ser directo (sólo se pasa por la llama), puesto que el calor excesivo puede cambiar la morfología celular de las bacterias a observar. El calor deseable es aquél en el que el portaobjetos sea apenas demasiado caliente para ser colocado sobre el dorso de la mano.

Procedimiento para la tinción

- Tinción con cristal violeta. Dejar un minuto y lavar.
- Fijación con una solución de yodo. Estabiliza el cristal violeta, todas las bacterias en la preparación permanecen de color púrpura o azul. Dejar un minuto y lave con agua.
- Extracción con alcohol u otro solvente. Decolora algunas bacterias (las Gram negativas) y no otras (las Gram positivas). Dejara unos segundos y lavar con agua.
- Tinción de contraste con safranina. Las bacterias Gram positivas ya están teñidas con cristal violeta y permanecen de color púrpura. Las bacterias Gram negativas se tiñen de color rosa. Dejar medio minuto y lavar con agua

Utilidades

En el análisis de muestras clínicas suele ser un estudio fundamental por cumplir varias funciones:

- Identificación preliminar de la bacteria causal de la infección.

- Utilidad como control calidad del aislamiento bacteriano. Los morfotipos bacterianos identificados en la tinción de Gram se deben de corresponder con aislamientos bacterianos realizados en los cultivos. Si se observan mayor número de formas bacterianas que las aisladas hay que reconsiderar los medios de cultivos empleados así como la atmósfera de incubación.

A partir de la tinción de Gram pueden distinguirse varios morfotipos distintos: Los cocos son de forma esférica. Pueden aparecer aislados después de la división celular (*Micrococos*), aparecer por pares (*Diplococos*), formar cadenas (*Estreptococos*), o agruparse de manera irregular (*Estafilococos*).

Los bacilos poseen forma alargada. En general suelen agruparse en forma de cadena (*Estreptobacilos*) o en empalizada.

También pueden distinguirse los espirales, que se clasifican en espirilos si son de forma rígida o espiroquetas si son blandas y onduladas. Si por el contrario, poseen forma de "*coma*", o curvados, entonces se los designa vibriones

ANEXO № 6

PROTOCOLO CULTIVOS Y PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Cultivo de Agar sangre

Preparación del medio de cultivo Agar sangre.

1. Realizar la esterilización del área donde se prepara los medios de cultivo y colocar todos los materiales necesarios.
2. En un matraz verter agua destilada, con la ayuda de una probeta medir los 500ml de agua destilada y trasvasar en el matraz Erlenmeyer.
3. Encerar la balanza y proceder a pesar la cantidad de 20gr de Agar sangre y trasvasar en el matraz con los 500ml de agua destilada para luego colocar un tapón al matraz.
4. Mezclar la preparación dando rotaciones suaves, y de inmediato colocar la preparación del Agar al calor.
5. Con la ayuda de un guante agitar suavemente la preparación hasta que hierva.
6. Luego retirar la preparación del fuego y dejar que se enfrié, para colocar la sangre y mezclar.
7. Esterilizar el área donde se colocará las cajas Petri estériles y verter el medio en las cajas con la tapa hacia arriba hasta que se solidifique el medio.
8. Finalmente los medios de Agar sangres preparadas se deben colocar en refrigeración para conservarlos hasta su uso.

Procedimiento para realizar la siembra de la muestra de secreción vaginal en Agar sangre

1. Rotular el Agar con el Nro. del paciente
2. Con el hisopo que se tomó la muestra se procede a la inoculación de la muestra en una placa de agar sangre.

3. Rotar toda la superficie del hisopo sobre el primer cuadrante de la placa, donde se inoculó la muestra.
4. A continuación esterilizar el asa para proceder a sembrar los tres cuadrantes restantes de la placa.
5. Colocar el cultivo en la incubadora por 24 horas-48 horas.
6. Revisar las placas a las 24h de incubación, si no existe crecimiento bacteriano prolongar la incubación por 24h más.

Cultivo de Agar Mac-Conkey

Preparación del medio de cultivo Agar Mac-Conkey.

1. Realizar la esterilización del área donde se prepara los medios de cultivo y colocar todos los materiales necesarios.
2. En un matraz verter agua destilada, con la ayuda de una probeta medir los 500ml de agua destilada y trasvasar en el matraz Erlenmeyer.
3. Encerar la balanza y proceder a pesar la cantidad de 20gr de Agar Mac-Conkey y trasvasar en el matraz con los 500ml de agua destilada para luego colocar un tapón al matraz.
4. Mezclar la preparación dando rotaciones suaves, y de inmediato colocar la preparación del Agar al calor.
5. Con la ayuda de un guante agitar suavemente la preparación hasta que hierva.
6. Luego retirar la preparación del fuego y dejar que se enfrié.
7. Esterilizar el área donde se colocará las cajas Petri estériles y verter el medio en las cajas con la tapa hacia arriba hasta que se solidifique el medio.
8. Finalmente los medios de Agar Mac-Conkey preparadas se deben colocar en refrigeración para conservarlos hasta su uso.

Procedimiento para realizar la siembra de la muestra de secreción vaginal en Agar Mac- Conkey

1. Rotular el Agar con el Nro. del paciente
2. Con el hisopo que se tomó la muestra se procede a la inoculación de la muestra en una placa de agar Mac-Conkey.
3. Rotar toda la superficie del hisopo sobre el primer cuadrante de la placa, donde se inoculó la muestra.
4. A continuación esterilizar el asa para proceder a sembrar los tres cuadrantes restantes de la placa.
5. Colocar el cultivo en la incubadora por 24 horas-48 horas.
6. Revisar las placas a las 24h de incubación, si no existe crecimiento bacteriano prolongar la incubación por 24h más.

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Las pruebas bioquímicas consisten en distintos test químicos aplicados a medios biológicos, los cuales, conocida su reacción, nos permiten identificar distintos microorganismos presentes.

PREAPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO PARA LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS

De la placa de aislamiento primario se toma otra colonia similar y luego se examinan las propiedades bioquímicas. Algunas veces, las bacterias se identifican (por ejemplo: por aglutinación) con anticuerpos disponibles comercialmente que reconocen antígenos definidos en la superficie de la bacteria. Ya están disponibles y son actualmente usadas otro tipo de pruebas de diagnóstico molecular.

Preceder a sembrar la bacteria en un agar Mac-Conkey, incubar por 24 horas a 37 ^{o}C para observar la primera prueba bacteriológica para establecer si la bacteria si es fermentadora de la lactosa o no. De este medio se tomaran las colonias para hacer la inoculación de bacteria en los

- medios de pruebas bioquímicas y poder identificar la bacteria que se desarrollaron en el medio.
- Procedemos a prepara los medios que se utilizaron en la presente investigación en las pruebas bioquímicas se utilizaron Catalasa, coagulasa, indol, ácido sulfídrico (SH_2), fenilalanina desaminasa, lisina, tsi (triple azúcar hierro), y prueba de la sensibilidad a la novobiocina.

IDENTIFICACIÓN BACTERIANA EN DE SECRECIÓN VAGINAL

PRUEBA DE LA CATALASA Y PEROXIDASA.

Se basa en la capacidad del enzima catalasa de descomponer el peróxido de hidrógeno añadido, formándose agua y O2, el cual se libera en forma de burbujas. Excluyendo los estreptococos, la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas poseen actividad catalasa.

Métodos:

- Método del portaobjetos.

Materiales	**Reactivos**
Tubos de ensayo	
Gradilla	Peróxido de hidrógeno al 30%
Asa bacteriológica	Tween 80 al diluido al 10% en
Lámpara de alcohol	Buffer fosfato M/15 pH 7.
Algodón	
Fósforo	
Porta objetos	
A. MacConkey (c. bacteriano)	
Tabla de interpretación bacteriana	

Procedimiento

- En un porta objetos limpio y seco depositar una colonia bacteriana procedente de un cultivo joven
- Añadir una gota de H2O2 al 30% sobre la colonia, sin mezclar. No invertir el orden
- Observar la inmediata formación de burbujas. La lectura debe de ser inmediata.

Interpretación:

- Prueba positiva: formación inmediata de burbujas bien visibles.
- Prueba negativa**:** no hay formación de burbujas.

Utilización

Se usa para diferenciar

- **Cocos gram positivos:**

Familia *Micrococcaceae* (*Staphylococcus* y *Micrococcus*) (+) de Géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* (-).

- **Bacilos gram positivos esporulados:**

Género *Bacillus* (+) de Género *Clostridium* (-)

- **Bacilos gram positivos no esporulados:**

Listeria (+) y *Corynebacterium* (+) de *Erysipelothrix* (-)

PROTOCOLO PARA LA PRUEBA DE LA COAGULASA

Es una prueba que detecta la presencia del enzima citocromooxidasa. La enzima citocromooxidasa, en presencia de oxígeno atmosférico, oxida el reactivo fenilendiamina oxidasa para formar un compuesto coloreado: indofenol.

Métodos

Método directo en placa (adición de reactivo a las colonias).

Materiales	**Reactivos**
Asa bacteriológica	Reactivo oxidasa Kovacs al 1%.
Lámpara de alcohol	
Algodón	
Fósforo	
Porta objetos	
Palillos	
A. MacConkey (c. bacteriano)	
Tabla de interpretación bacteriana	

(Reactivo de Kovacs: Diclorhidrato de tetrametil-p-fenilendiemina al 1%.).

Procedimiento:

- Añadir 2 o 3 gotas de reactivo a algunas colonias sospechosas. No inundar toda la placa ni invertirla.
- Observar un eventual cambio de color. La lectura con reactivo de Kovacs se lo hace antes de 10 segundos.

Interpretación

Prueba positiva: Con reactivo de Kovacs: color negro purpúreo en 10 segundos.

Prueba negativa: Sin cambio de color o permanece el color de la colonia.

Utilización:

Se usa para diferenciar:

- **Bacilos Gram negativos:**

Familia *Pseudomonadaceae* (+)(**1**) de Familia *Enterobacteriaceae* (-)

- **Cocos Gram negativos:**

Género *Neisseria* (+) de otros cocos gram negativos (-)

- **Bacilos Gram negativos:**

Se usan también para ayudar a la identificación de: Aeromonas (+), Moraxella (+), Acinetobacter (-).

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD

PROTOCOLO DE LA NOVOBIOCINA.

Varias especies del Género *Staphylococcus* son resistentes a la novobiocina (disco de 5 µg).

Materiales	**Reactivos**
Tubos de ensayo	novobiocina (disco de 5 µg).
Gradilla	
Asa bacteriológica	
Lámpara de alcohol	
Algodón	
Fósforo	
Porta objetos	
Pinza	
Palillos	
Incubadora	
A. MacConkey (c. bacteriano)	
Tabla de interpretación bacteriana	

Procedimiento:

APLICACIÓN DE LOS DISCOS

- Colocar los discos individuales o multidiscos sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril o la punta de una aguja presionando suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar.

- Distribuir los discos uniformemente, de modo que estén a una distancia mínima de 25 mm uno del otro (el diámetro de los discos según las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) debe ser de 6 mm).

- No deben colocarse más de 12 discos en una placa de 150 mm, ni más de 6 en una placa de 100 mm de diámetro interno, para evitar la superposición de las zonas de inhibición. Un disco no debe ser removido una vez que tomó contacto con la superficie del agar debido a que algunos antibióticos se difunden rápidamente.

Técnica.

- Se siembra una placa de agar sangre con un hisopo embebido en una suspensión de la cepa a estudiar. Luego se aplica el disco de novobiocina y se incuba a 35º por 18 horas.

Interpretación

- Positiva:Un halo de inhibición de crecimiento menor o igual a 16mm corresponde a *S.saprophyticus*.
- Negativa: Un halo de inhibición mayor de 16mm corresponde a otros estafilococos coagulasa negativos.

PROTOCOLO PARA PRUEBA DE ÁCIDO SULFHIDRICO (SH_2)

Determinar si se ha liberado enzimáticamente ácido sulfhídrico (h2s) gaseoso apartir de los aminoácidos azufrados para producir una reacción coloreada visible,

negra, en presencia de un sistema indicador de h2s.la enzima responsable de esta actividad, es la cisteinasa. Tiene como objetivo ayudar en la diferenciación e identificación de especies de enterobacterias. Se utilizan medios que contengan aminoácidos sulfurados como: agar KLINGER, TSI, SIM al medio dejar solidificar en pico de flauta o recto.

Materiales

Tubos de ensayo
Gradilla
Asa bacteriológica
Lámpara de alcohol
Algodón
Fósforo
Porta objetos
Palillos
Incubadora
A. MacConkey (c. bacteriano)
Tabla de interpretación bacteriana

INTERPRETACIÓN.

- **Positivo:** Cualquier ennegrecimiento del medio o a lo largo de la línea de siembra, o en todo el fondo.
- **Negativo:** Ausencia de ennegrecimiento

PROTOCOLO PARA LA PRUEBA DEL KLIGLER Y TSI (TRIPLE AZÚCAR HIERRO)

El TSI es un medio nutriente y diferencial que permite estudiar la capacidad de producción de ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y lactosa en un único

medio. También permite la identificación de la producción de SH2. Esta es una prueba específica para la identificación a nivel de género en la familia *Enterobacteriaceae*, con objetivo de diferenciar entre:

- bacterias fermentadoras de la glucosa
- bacterias fermentadoras de la lactosa
- bacterias fermentadoras de sacarosa
- bacterias aerogénicas
- bacterias productoras de SH2 a partir de sustancias orgánicas que contengan azufre.
-

Procedimiento:

- Inocular los tubos de TSI con punta (alambre recto). Para eso introducir la punta hasta 3 a 5 mm. del fondo del tubo. Tras retirar el alambre del fondo, estriar el pico con un movimiento hacia uno y otro lado. Incubar a 35° durante 24 horas. Posteriormente se debe medir el pH de los cultivos.

Interpretación

- **Pico alcalino/fondo alcalino:** no hay fermentación de azucares. Característica de bactrias no fermentadoras como *Pseudomonas sp.*

- **Pico alcalino/fondo ácido:** Glucosa fermentada,l actosa ni sacarosa fermentadas. *Shigella spp*.

- **Pico alcalino/fondo negro:** Glucosa fermentada, ni lactosa ni sacarosas fermentadas, producción de ácido sulfhídrico. *Salmonela spp.*

- **Pico ácido/fondo ácido:** Glucosa y lactosa y/o sacarosa fermentadas. Puede producirse SH2 o no. *Escherichia coli.*

A estos resultados se les agrega el resultado de la producción de gas.

PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DEL CITRATO

El principio de esta prueba consiste en determinar si un microorganismo es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono para el metabolismo y el crecimiento con alcalinidad resultante.

Se cultiva el microorganismo en agar citrato de Simmons. Este medio contiene citrato de sodio y fosfato de amonio como fuentes de carbono y de nitrógeno respectivamente y azul de bromotimol como indicador de pH. Sólo las bacterias capaces de metabolizar el citrato podrán multiplicarse en este medio y liberarán iones amonio lo que, junto con la eliminación del citrato (ácido), generará una fuerte basificación del medio que será aparente por un cambio de color del indicador de pH, de verde a azul.

Procedimiento

Se inocula el agar inclinado en una sola estría en el pico. Utilizar un cultivo de 24h en un medio sólido y cuidando no arrastrar medio de cultivo, ya que se pueden producir falsos positivos por crecimiento a partir del medio de cultivo del inóculo. Incubar a 37ºC durante 24h.

Resultados.

- Positivo: Cuando se observa crecimiento a lo largo de la estría y con un cambio de color de verde a azul.
- Negativo: Cuando no hay crecimiento a lo largo de la estría y el medio conserva su color verde.

ANEXO № 7

REGISTRO DE RESULTADOS OBTENIDOS

№.	FRESCO	GRAM	AGAR SANGRE	AGAR MAC-CONKEY	RESULTADO DEL CULTIVO Y PRUEBAS BIOQUÍMICAS

ANEXO № 8

Dra.

Elsa Ramírez

JEFE DEL LABORATORIO DE BIOANALISIS "ALFA"

A petición de la interesada

CERTIFICO:

.

Que la Egresada Dalia Alexandra España Alborada ha realizado análisis bacteriológicos de muestras de secreción vaginal para el trabajo de investigación denominado:**"PREVALENCIA DE VAGINOSIS BACTERIANA EN MUJERES TRABAJADORAS SEXUALES QUE ACUDEN A LA CONSULTA GINECOLÓGICA DEL CENTRO DE SALUD N° 1 DE LA CIUDAD DE LOJA".**

Por lo autorizo a la interesada hacer uso de la presente para los trámites pertinentes.

Loja, 07 de febrero del 2011.

Dra. Elsa Ramírez.

LABORATORIO DE BIOANÁLISIS "ALFA

ANEXO № 9

TRABAJO DE CAMPO

CENTRO DE SALUD N°1 DE LA CIUDAD DE "LOJA".

FASE PREANALÍTICA

Lugar de toma de muestr

FASE ANALÍTICA

ANÁLISIS DE MUESTRAS

CENTRO DE BIOANALISIS ANÁLISIS "ALFA"

Examen en fresco de secreción vaginal

Tinción de Gram

Cultivos