UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO

IDENTIFICACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE LEUCORREA EN NIÑAS DE 5 – 10 AÑOS QUE ACUDEN A LOS CENTROS DE SALUD № 1, 2 Y 3 DE LA CIUDAD DE LOJA

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADA EN LABORATORIO CLÍNICO.

AUTORA

Ada Elizabeth OrdoñezHoyos

DIRECTORA

Dra. Elsa Ramirez Sanmartín

Loja – Ecuador

Enero

2011

IDENTIFICACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE LEUCORREA EN NIÑAS DE 5 – 10 AÑOS QUE ACUDEN A LOS CENTROS DE SALUD N. 1, 2 Y 3 DE LA CIUDAD DE LOJA

AUTORÍA

La responsabilidad de esta investigación, titulada ***"IDENTIFICACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE LEUCORREA EN NIÑAS DE 5 – 10 AÑOS QUE ACUDEN A LOS CENTROS DE SALUD N. 1, 2 Y 3 DE LA CIUDAD DE LOJA"*** construcción teórica, metodología, resultados, conclusiones y recomendaciones, pertenecen exclusivamente a la autora.

ADA ELIZABETH ORDOÑEZ HOYOS

CERTIFICACIÓN

Dra.

Elsa Ramírez Sanmartín.

DIRECTORA DE TESIS.

CERTIFICA:

Que la presente investigación fue dirigida, supervisada y revisada prolijamente en toda su extensión; la misma que cumple con todos los parámetros legales que exige la Institución.

Por lo expuesto queda autorizada su presentación para los fines legales pertinentes.

Loja, Enero del 2011.

Dra. Elsa Ramírez

DIRECTORA DE TESIS

AGRADECIMIENTO

Mi más sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de Loja, al Área de la Salud Humana en especial a la Carrera de Laboratorio Clínico a sus autoridades y docentes por la formación académica profesional brindada.

Dejo constancia de mi imperecedero agradecimiento a la Dra. Elsa Ramírez quién con su apoyo como Directora de la presente Tesis, por sus valiosos conocimientos, su colaboración y apoyo académico en el desarrollo de la misma; hasta llegar a alcanzar su feliz culminación del presente trabajo de investigación, también hago presente mi agradecimiento a la Dra. Claudia Cruz, Directora del Centro de Diagnóstico Médico de ASH de la UNL. A la Lcda. Mercedes Riascos, y al Tcgo Méd. Fabricio Jaramillo encargados del departamento de análisis del CDM.

Finalmente extiendo mi agradecimiento especial al, Centro de Salud № 1 ″Área de la Salud № 1", al Centro de Salud № 2 ″Hugo Guillermo González”, y al Centro de Salud № 3 ″Jefatura de Salud”, a las representantes de las niñas, por su predisposición y buena voluntad para la realización de esta investigación por su predisposición y buena voluntad para la realización de esta investigación.

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico: A Dios, por todas las bendiciones regadas en el camino emprendido de mi vida.

A mis queridos padres, en especial a uno de mis pilares fundamentales, mi querida Mamita, que aunque ya no está conmigo desde el cielo me ilumina, cuida y guía cada uno de mis pasos y sé que hoy estaría muy feliz por ver su sueño forjado en una realidad. Otro de los cimientos más importantes, mi padre que con su dedicación, consejos y cariño me ha sabido guiar y apoyar en todos los momentos de mi vida. A mi hermana Sandra que con sus muy acertadas manifestaciones ha sabido compartir mis penas y alegrías.

Y también con mucho cariño deseo dedicar el presente trabajo a un ser muy pequeñito pero de trascendental importancia siendo esta la alegría de mi vida, mi sobrinita Paulita del Carmen.

ADITA ELIZABETH

ÍNDICE

CONTENIDOS **PÄGINA**

CARÁTULA……..…….…..……..….I

TÍTULO……..……..…..II

AUTORÍA…..……...……...…..……...…….III

CERTIFICACIÓN……..……..…….……..IV

AGRADECIMIENTO.....……..…..……...…….……V

DEDICATORIA……....…….…VI

ÍNDICE……...……...…..…VII

RESUMEN……....…..……VIII

SUMARY…….....…...…..…..……X

INTRODUCCIÓN……..……...…….……..….12

REVISIÓN DE LITERATURA….……..…….....15

MATERIALES Y MÉTODOS……..…….....42

RESULTADOS……...……...…...……..…74

DISCUSIÓN…….……..….78

CONCLUSIONES……..……....……...….81

RECOMENDACIONES……..……..…….……..….82

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS……..…..…...83

ANEXOS……...…….…..……89

RESUMEN

Las afecciones ginecológicas en las niñas no son tan frecuentes como suelen serlo en la adolescencia o en cualquier otra etapa de la vida. La leucorrea infantil más que un síntoma es un síndrome que conlleva al escurrimiento vaginal que por sí solo ofrece características determinables clínicamente que proporciona un medio de estudio físico, microscópico y bacteriológico.

Esta investigación tiene como objetivo identificar los agentes causales de leucorrea en niñas de 5 a 10 años que acuden a los Centros de Salud № 1, 2 y 3 de la ciudad de Loja, mediante la utilización de un amplio muestreo, y bajo estrictos protocolos; para de esta manera proporcionar información de cuáles son los agentes patógenos que causan leucorrea en niñas.

El presente estudio es de tipo descriptivo, interpretativo de corte transversal, tomó en cuenta a la población infantil de niñas de 5 - 10 años que asistieron a la consulta en los Centros de Salud № 1, 2 y 3 de la ciudad de Loja; durante el período de abril - julio del 2010.

Para la realización del trabajo investigativo se utilizó como grupo de estudio a 100 niñas que acudieron a los Centros de Salud № 1, 2 y 3 de las zonas urbanas de la ciudad de Loja durante el periodo anteriormente mencionado, que acudieron en las condiciones necesarias para el examen de secreción vaginal solicitado por el médico tratante. Se excluyeron a las niñas que se hayan realizado un aseo genital previo y que se encuentren en tratamiento con antibióticos.

Para la realización del trabajo analítico se aplicaron las pruebas de fresco, KOH, Gram, y cultivos, para determinar mediante estas pruebas cual es el agente causal de la leucorrea en niñas comprendidas entre 5 y 10 años.

Para el análisis de datos y tabulación se realizó el procesamiento de la información, con los resultados se obtuvo la frecuencia, porcentaje, moda o mediana. La tabulación de los datos numéricamente se realizo en porcentajes con los que se construyeron tablas de frecuencias simples. Se analizaron los resultados contrastando o comparando con estudios realizados por otros autores, luego se plantearon criterios propios con los cuales se formularon las conclusiones y recomendaciones.

Como requisito para iniciar el estudio se solicitó la autorización de los representantes legales de las niñas, en este caso de la madre.

- En la fase pre-analítica: Se obtuvo autorización de los Directores de los Centros de Salud para realizar los análisis a las niñas del sector urbano de la ciudad de Loja. También se informo a los padres de familia sobre las condiciones de la toma de muestras. Los datos personales de las niñas participantes mediante una encuesta informativa.

- En la fase analítica: se realizó la recolección de las muestras, para luego realizar el estudio físico, microscópico y bacteriológico, fresco, KOH, tinción de gran y cultivos mediante la utilización de agar sangre, agar MacConkey.

- En la fase post-analítica: Se realizó el análisis estadístico mediante el programa EPI – INFO 6, con la cual se elaboraron tablas estadísticas. Posteriormente se dió a conocer los resultados a la comunidad universitaria y científica en el campo de la salud.

  Determinando que los agentes causales de la leucorrea en las niñascon mayor incidencia es la *Echericha coli.*

PALABRAS CLAVES: Leucorrea, agar MacConkey, agar sangre, KOH.

SUMARY

This research aims to identify the causative agents of vaginal discharge in girls from 5 to 10 years attending health centers № 1, 2 and 3 of the city of Loja, using a large sample, and under strict protocols; in this way to provide information on what are the pathogens that cause vaginal discharge in little girls.

This study is descriptive, interpretative cross-section, taken into account in the child population aged 5 - 10 years who attended the consultation at Health Centers № 1, 2 and 3 in the city of Loja, during the period April to July 2010.

To carry out the research work was used as a study group of 100 girls who attended health centers № 1, 2 and 3 urban areas of the city of Loja in the aforementioned period, which came in the conditions for examination of vaginal secretion requested by the treating physician. We excluded girls who have not made a prior genital grooming that are not treated with antibiotics.

To carry out the analytical work were applied to fresh evidence, KOH, Gram, and crops, using these tests to determine which is the causative agent of vaginal discharge in girls between 5 and 10 years.

For data analysis and tabulation was done processing the information, taking into account the results we obtained data such as frequency, percentage, or median fashion for analysis. The tabulation of numerical data in percentages that were built with simple frequency tables. Contrasting results were analyzed and compared with studies by other authors, and then raised their own criteria with which to draw conclusions, recommendations

As a prerequisite to starting the study, requested authorization from the legal representatives of the girls, in this case of the mother.

- In the pre-analytical phase: We obtained approval from the Directors of Health Centers for analysis girls in the urban sector of the city of Loja. Information for parents about the conditions of sampling. Personal data of girls participants through informative survey.

- In the analytical phase: the time of collection of samples for the study after physical, microscopic and bacteriological fresh KOH, staining of large and crops through the use of blood agar, MacConkey agar.

- In the post-analytic statistical analysis was performed using the EPI - INFO 6, which produced statistical tables. Subsequently became known the results to the academic and scientific community in the field of health.

- Determining that the causative agents of vaginal discharge in girls with the highest incidence are *Echericha coli.*

KEYWORDS: Leucorrhoea, MacConkey agar, blood agar, KOH.

INTRODUCCIÓN

La leucorrea es un síntoma que se remite a la expresión “secreción blanca”, que puede estar motivada por múltiples causas.

La Universidad Nacional de Loja, cumpliendo con principio de visión y misión para constituirse en un Centro de Educación Superior de alto nivel que forme profesionales de alta capacidad científica y técnica; ytravés de la carrera de Laboratorio Clínico he podido realizar el presente estudio investigativo denominado“IDENTIFICACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE LEUCORREA EN NIÑAS DE 5 – 10 AÑOS QUE ACUDEN A LOS CENTROS DE SALUD N. 1, 2 Y 3 DE LA CIUDAD DE LOJA “, trabajo que integró a médicos de los Centros de Salud, madres, y niñas que acudieron a estos centros, dando a conocer luego del análisis clínico los resultados obtenidos que son un aporte muy significativo para la comunidad científica, principalmente del Área de la Salud Humana.

Las afecciones ginecológicas en las niñas no son tan frecuentes como suelen serlo en la adolescencia o en cualquier otra etapa de la vida, pero no por eso dejan de tener importancia, pues la amplitud y complejidad de su atención no se limitan exclusivamente a los aspectos biológicos, sino que hay que considerar además la repercusión que puedan tener en esa esfera, así como también en la psicosocial, y en la conductual.[13]Entre los factores que influyen para la aparición de Vulvovaginitis en niñas son el aseo perineal incorrecto, el uso de piscinas, la contaminación por hacinamiento o el uso de ropa de personas adultas razón por lo cual es importante estudiar estos aspectos para definir su naturaleza y determinar la conducta terapéutica a seguir.

Según datos obtenidos por parte de la Organización Panamericana de laSalud OPS/OMS en el año 2003 en términos generales la leucorrea infantil causa daños en la salud del infante sea a corto o largo plazo, produciendo molestias en las niñas que son detectadas por las madre, y constituyen un motivo de visita al médico para determinar la causa de esta anomalía, por tanto es de vital

importancia determinar cuáles son los agentes causales que provoca las leucorreas infantiles.[16]

La provincia de Loja se encuentra ubicada al Sur del Ecuador, a 2.317 m.s.n.m., tiene una temperatura promedio 21 °C, y una precipitación anual aproximada de 980 mm, es una provincia de clima templado, dentro aspecto sociocultural se destacandiferentes grupos étnicos, dentro del aspecto económico sus principales actividades son la agricultura y la ganadería; la alimentación es variada, incluyendo en su dieta alimenticia productos agrícolas, derivados cárnicos y la ingesta de comidas rápidas,[12]estas condiciones en las que se desarrolla nuestra población deben tenerse en cuenta como factores predisponentes que podrían producir inflamación- infección de la mucosa vaginal en niñas, así como también otros factorescomo el cambio de clima, uso de antibióticos,corticoides, inmunosupresores que también contribuyen a la aparición de esta infecciones vaginales en las niñas.

El presente trabajo investigativo tiene como objetivo identificar los agentes patógenos más frecuentes en las leucorreas infantiles mediante pruebas directas inespecíficas y especificas, para llegar a determinar los agentes patógenos que provocan las leucorreas en niñas.

En la parte metodológica se realizó un estudio descriptivo analítico-de corte transversal, en las que se involucro a 100 niñas de 5 – 10 años que acudieron a los centros de salud N. 1, 2 y 3 de la ciudad de Loja , para el cálculo de los resultados se utilizó el programa estadístico EPI - INFO 6. Luego del análisis de cada una de las muestras mediante pruebas de laboratorio y del análisis estadístico se determinó que la mayor incidencia de microorganismos causantes de leucorrea en este grupo etario son: 32 % *Echerichia coli,* 28% de *Estafilococo saprofiticus,*9% *Estafilococo epidermidis*, 4% de *Enterobacter agglomerans, Proteus vulgaris y Estreptococo viridans,* 3% la *Candida albicans y finalmente un 16%* sin crecimiento bacteriano.

Los datos publicados en el presente trabajo investigativo sean un aporte muy significativo para los profesionales de la salud, comunidad universitaria, laboratorista, y médicos para un buen diagnóstico y correcto tratamiento.

REVISIÓN DE LITERATURA

VAGINA

La vagina o colpos (la primera, del latín*vagina*, "vaina"; la segunda, del griego *kolpos*, "regazo") es el órgano de la copulación (junto con el vestíbulo y la vulva).[26]

La vagina es un tubo musculo membranoso con arrugas transversales durante la fase reproductiva de la vida. Se inclina posteriormente, formando un ángulo aproximado de 45 con respecto al plano vertical del organismo. La pared vaginal anterior está separada de la vejiga y de la uretra por tejido conectivo denominado septo vesicovaginal. La pared vaginal posterior queda separada del recto por el septo rectovaginal. Las paredes anterior y posterior de la vagina suelen estar próximas, formando una cavidad virtual. El extremo superior de la vagina es un manguito ciego, donde se proyecta el cuello uterino. La bolsa que se forma alrededor del cuello se divide en fórnix anterior, posterior y laterales; estos fondos de saco tienen una gran importancia clínica, ya que los órganos internos de la pelvis pueden palparse a través de estas finas paredes.[36]

El contenido vaginal inerte está constituido por una serie de productos de desecho, tanto orgánicos como inorgánicos. También forman parte de él: agua, electrolitos, mucopolisacáridos de la secreción endocervical y de las glándulas vestibulares, sangre, células de las zonas altas del útero, trompas e incluso peritoneales, así como saprófitos que pululan en la vagina.

Por la rica acción enzimática que se desarrolla en el epitelio exfoliado (especialmente por la citolisis de las células de la capa intermedia) para la degradación del glucógeno a ácido láctico, se han encontrado también fosfatos ácidos y ß-glucuronidasas. La glucosa llega a alcanzar concentraciones de hasta 4%.[26]

La vagina normalmente tiene que mantener un estado de acidez, (ph3.5 a 4.5) que da las condiciones naturales para que los microorganismos que la habitan estén en perfecto balance. Si por algún motivo el ambiente natural de la vagina cambia; el nivel normal de acidez cambia y este balance se pierde. Se producirán entonces las condiciones ideales para el crecimiento rápido y sin control de microorganismos y por ende la infección vaginal.

En la niñez, mientras no hay tono estrogénico se mantiene una flora mixta abundante, así como *E.coli*, que se volverá a encontrar de nuevo en la vejez. Van tomando parte en proporción creciente los lactobacilos acidófilos, que representan la flora fisiológica de la vagina durante la madurez sexual, hasta que desaparecen en la vejez.[31]

FUNCIONES DE LA VAGINA

Entre las funciones que cumple la vagina tenemos:

- Es el conducto excretor del útero;
- Es el órgano femenino del coito;
- Es el conducto del parto;
- Dentro de estas funciones se habla también de un posible papel nutritivo del semen y de una capacidad inmunitaria actuando el semen como elemento antigénico y depuración o defensa (barrera microbiológica).[35]

La vulva de una niña recién nacida es estéril, pero después de las primeras 24 horas de vida adquiere de manera gradual una rica y variada flora de microorganismos no patógenos tales como difteroides, micrococos y estreptococos no hemolíticos. Luego de dos días el estrógeno de la circulación materna induce el depósito de glicógeno en el epitelio vaginal, lo que facilita el desarrollo de Lactobacillus (bacilos de Doderlein). Estos microorganismos

producen acido a partir del glicógeno y se desarrolla una flora semejante a la de las mujeres adultas.

Después de excretado el estrógeno es transferido de manera pasiva el glicógeno desaparece, los *lactosbacillus* desaparecen y como consecuencia el pH vuelve a ser alcalino.[26]

LEUCORREA

Aunque el término leucorrea literalmente significa "secreción blanca", el color de la secreción vaginal puede variar dependiendo de la causa, siendo la más común la infección vaginal, pero puede variar desde una secreción lechosa normal en la niña premenárquica, hasta una sanguinolenta causada por un cáncer de vagina o de cérvix.

Antes de la menarca puede existir una secreción vaginal escasa que no causa irritación y no se considera anormal y en la adolescente se presenta una pequeña cantidad de material mucoide blanco en la vagina que es el resultado de la descamación y acumulación de células epiteliales. Se considera anormal una secreción vaginal maloliente, que produzca irritación, prurito o manchado de la ropa interior. [26]

- Las leucorreas pueden tener diversos orígenes:

  LA LEUCORREA DE ORIGEN CERVICAL a veces es fisiológica hasta el momento de la ovulación. Aquí se incluye la leucorrea purulenta de las cervicitis.

  LA LEUCORREA DE ORIGEN VAGINAL es muy frecuente sobre todo durante la vida sexual activa de la mujer; en ocasiones se asocia con atrofia

vaginal en niñas, castradas y posmenopáusicas.

LA LEUCORREA VESTIBULAR OCURRE durante los momentos que preceden al coito, o en otras excitaciones psicosexuales, cuando se humedecen los genitales externos de la mujer.[37]

La leucorrea vaginal y la irritación vulvar son síntomas frecuentes de VV, y su aumento constante supone un porcentaje elevado del trabajo en la consulta ginecológica. Siempre existe algún grado de leucorrea vaginal, pero la cantidad varía según el estado hormonal de lapaciente.

FISIOPATOLOGÍA

Se debe considerar la fisiopatología de acuerdo a los grupos de edad debido a la influencia exógena y endógena de los estrógenos y de la actividad sexual. Bajo la influencia de los estrógenos el epitelio vaginal es más grueso y presenta grandes cantidades de glucógeno; esta colección de glicógeno intraepitelial resulta en la producción de ácido láctico; este medio ambiente ácido (pH 3,5 – 4,0) mantiene el crecimiento de una flora vaginal normal principalmente lactobacilos (bacilos de Doderlein) y corynebacterias acidogénicas. Los organismos tipo Cándida pueden presentarse pero en pequeñas cantidades debido a la preponderancia de bacterias.

La falta relativa de estrógenos durante la niñez conlleva una mucosa vaginal delgada que es pobremente resistente a la infección, así como la depleción de estrógenos debido a la edad, a una ooforectomía o a irradiación pélvica causa atrofia de la mucosa vaginal, una reducción en el contenido de glicógeno y disminución en la acidez del fluido vaginal.

Una mucosa vaginal delgada es más susceptible al trauma y la población bacteriana varía cambiando de ser predominante lactobacilífera a consistir de cocos patógenos.

Otros factores que tienden a hacer la vagina más alcalina son la menstruación, el moco cervical infectado, el trasudado vaginal que ocurre con la estimulación sexual y la presencia de semen.[37]

Las niñas prepúberes no tienen el colchón graso de los labios ni el vello pubiano para proteger el introito. Los labios menores son pequeños exponiendo así el introito vaginal. La relativa proximidad del ano y de la vagina en las niñas pequeñas también contribuye a la contaminación vaginal por microorganismos entéricos. Lo que es más importante, unas prácticas higiénicas inadecuadas (por ejemplo limpiarse desde atrás hacia adelante tras orinar o defecar) pueden complicar el problema.[32]

El epitelio vaginal no estimulado por estrógenos es relativamente delgado, inmaduro, y se traumatiza con facilidad. Además, el pH de la vagina es neutro o alcalino, a diferencia del medio ácido de la vagina de las mujeres adultas. También se cree que en la vagina de las niñas prepúberes no existe producción de anticuerpos. [35]

Flujo vaginal normal

En las niñas prepúberes es normal la presencia de flujo vaginal en dos momentos diferentes: Poco después del nacimiento, secundariamente a los efectos de los estrógenos matemos, y aproximadamente entre 6 meses y un año antes de la menarquía, que se produce después de haber alcanzado el estadio III de Tanner.

Flujo vaginal patológico

Niñas prepúberes

- Supresión de estrógenos (recién nacidas)
- Irritación química por jabones y detergentes

- Irritación mecánica por ropa interior de nylon o ajustada
- Cuerpo extraño en la vagina
- Mala higiene
- Enterobiasis (lombrices)
- Infección por levaduras
- Infección bacteriana (p. ej., *estreptococo* del grupo A, *Shigella**)***
- Enfermedad de transmisión sexual (p. ej., infección gonocócica, infección por clamidyas, tricomoniasis)
- Anomalía congénita [p. ej., uréter ectópico (inflamación local)] Anomalía adquirida [p. ej., fusión de los labios (remanso de orina en la vagina)]
- Prolapso uretral
- Enfermedad sistémica (p. ej., escarlatina, enfermedad de Crohn) [34]

ETIOLOGÍA

Pacientes que tienen síntomas vaginales, como suele ser la leucorrea, pudiendo relacionarse ésta con la presencia de gérmenes, pero sin existir signos de inflamación; se habla entonces de vaginosis.[34]

La palabra vaginitis significa inflamación de la mucosa vaginal, cualquiera que sea el origen infeccioso o los productos químicos utilizados para el aseo personal tales como los desodorantes femeninos en sprays, papel de toilette perfumado o coloreado, burbujas para el baño, tapones o toallas sanitarias, etc.

Debido a su localización y a su estructura anatómica, la cavidad vaginal es susceptible a la invasión bacteriana con la consecuente "retención de la infección". En la niñez y en la adolescencia, son las madres las más preocupadas y son las que necesitan que se les brinde explicación y tranquilidad. [31]

- Leucorreas por hábitos higiénicos inadecuados, los gérmenes implicados son los del tracto genital bajo. La *E. coli* está presente en el 70% de los casos.

- Leucorreas micóticas**,**de contaminación endógena (micosis intestinal) ó exógena (venérea). Se caracterizan por una secreción latescente espesa, ardor vulvovaginal y dispareunia. Se debe a *Candida albicans.* Aparecen en el curso del embarazo, en las pacientes diabética, y en las mujeres que utilizan anticonceptivos orales y después de un tratamiento con antibióticos.

- Leucorreas por *Gardnerella*

- *Leucorreas reacciónales*en vaginitis no infecciosase referimos a algunos agentes químicos y físicos.

- Leucorreas hormonales en vaginitis atróficas de origen hormonal por hipoestogenismo, que se producen en las mujeres menopáusicas, y también se admite que son el origen de las colpitis granulosa y descamativa

- Leucorreas tricomoniasicas, de contaminación venérea. Se caracterizan por una secreción verdosa maloliente, con pequeñas ampolla, dispareunia, prurito intenso y doloroso, vaginitis y cervicitis roja profusa.

- Leucorreas microbianas agudas, a menudo van asociadas por vaginitis vulvitis, y dispareunia intensa con secreción purulenta irritante y verdosa. Siempre hay que solicitar al laboratorio la búsqueda de gonococos y tratar a los compañeros sexuales. Verificar la curación mediante el análisis de nuevas muestras.(diccionario de enfermería)

- Leucorrea de origen cervical, sea por lesión crónica (ectropión, displasia, cáncer de cuello o por lesión aguda microbiana asociada a vulvitis, vaginitis, signos urinarios, dispareunia intensa, y dolores pélvicos o lumbrosacros. [19]

Los frotis cervicovaginales con biopsia guiada por la colposcopia siempre se lleva a cabo para detectar un cáncer. Si no se trata la cervicitis suele dejar cicatrices displasicas. Pueden encontrarse en el origen de dolores pélvicos recidivantes de dispareunia e incluso de una esterilidad. También sería un factor de cáncer uterino (virus del papiloma humano).

Vaginitis infecciosa

Las vaginitis infecciosas pueden aparecer por un aumento en la virulencia de los gérmenes ya existentes en la flora vaginal, los cuales son considerados como saprófitos o habituales, o por la aparición de otros que, dada su virulencia, provocan desde el principio una reacción inflamatoria.[35]

En la vaginosis bacteriana el examen microscópico ofrece un aspecto característico: numerosas células epiteliales a menudo en conjuntos, cuya superficie está recubierta por una multitud de bacterias cocoides: "las células clave" o "células granulosas" que la *Gardnerella* forma in vivo con las células vaginales o uretrales. La flora es muy abundante ("puré de gérmenes") y el aspecto abigarrado o heterogéneo, debido a la coloración variable del Gram, es típico y ha sido descrito como "pimienta y sal". Este tapiz homogéneo es un elemento decisivo en la orientación del diagnóstico. Otros gérmenes pueden estar presentes, pero jamás los lactobacilos.[19]

En la vagina hipoestrogénica de la mujer premenárquica y posmenopáusica se puede encontrar una flora bacteriana mixta, especialmente ante la presencia de trauma o cuerpo extraño. Un diagnóstico específico se puede lograr con la

realización de un directo y Gram de la secreción vaginal, mientras que el cultivo puede llevar a confusión debido a que se aísla flora mixta.

CANDIDIASIS

Enfermedad que se conoce también como candidosis o moniliasis es un microorganismo que se encuentra con mucha frecuencia en la boca y aparato gastrointestinal de personas normales. No vive en el suelo, suele encontrarse en pequeñas cantidades en personas normales y no produce enfermedad, este microorganismo se reproduce rápidamente y puede cambiar incluso de forma de crecimiento.[4]

La presencia de levaduras en pequeña cantidad de microbiota vaginal y sin producir síntomas se considera normal. Pero si las condiciones en la vagina cambian, puede ocurrir un sobre crecimiento de la *Candida albicans,* que da origen a una Vulvovaginitis.

El desarrollo de levaduras en la vagina puede deberse a altas concentraciones de estrógenos, el embarazo y muy frecuentemente a la administración de antibióticos, que al eliminar la microbiotica bacteriana, provoca un sobrecreciendo de levaduras.

El agente causal más frecuente de la vulvovaginitis candidiasica es *C. albicans.* Se manifiesta por escozor e irritación en la vulva y vagina y a veces hay presencia de leucorrea.[2]

Los organismos tipo Cándida pueden presentarse pero en pequeñas cantidades debido a la preponderancia de bacterias. La falta relativa de estrógenos durante la niñez conlleva una mucosa vaginal delgada que es pobremente resistente a la infección, así como la depleción de estrógenos debido a la edad.

El diagnóstico se basa en la presentación clínica de la enfermedad como también en la demostración de los micelios de cándida. La identificación de *la Candida albicans* depende del hallazgo de las formas filamentosas (seudohifas).[14] Puede cultivarse el germen en medio de Sabouraud o de Nickerson[35]

GONORREA.

Neisseria gonorrhoreae es un coco aerobio gram-negativo e inmóvil con forma de haba que generalmente se dispone en parejas (diplococo), intracelular, ya que generalmente se ve el patógeno ingerido por leucocitos polimorfonucleares. Muestra una clara predilección por el epitelio cilíndrico y de transición. Los epitelios estratificados de la vulva y la vagina son resistentes a su invasión. Los seres humanos son los hospederos definitivos. El germen es sensible a la desecación y sobrevive en un ambiente húmedo. [2]

La mayoría de las infecciones gonocócicas afectan predominantemente al tracto genital, la uretra en el varón y el endocervix en la mujer, puede permanecer localizado en el lugar primario lo cual significa que el 75% de las cervicitis pueden ser asintomáticas así como el 10% de las uretritis. El período de incubación es de 2 a 5 días tanto en mujeres como en hombres. El 60% de las mujeres se infecta con el diplococo después de una exposición única, para el hombre dicho porcentaje es de 30%, la infección es mucho más frecuentes después de exposiciones múltiples.

La gonorrea se contrae casi siempre por contacto sexual, salvo la conjuntivitis del neonato y la vulvovaginitis de las niñas preadolescentes. El cervix uterino es generalmente el lugar primario de infección en la mujer, también se pueden afectar la uretra, las glándulas de Skene y las glándulas de Bartolino. Pocas mujeres tienen disuria asociada o polaquiuria. En realidad las mujeres infectadas pueden presentar solo flujo vaginal y con demasiada frecuencia a causa de otra infección concomitante, no se piensa en el diagnóstico de endocervicitis gonocócica. La

infección rectal ocurre en menos de un tercio de los pacientes por propagación directa de la leucorrea o exposición genitorrectal. El sexo oral parece generalizarse cada vez más y es la causa que se preste atención a la gonorrea faríngea. Algunos investigadores consideran que es más frecuente en la grávida; estas infecciones faríngeas son habitualmente asintomáticas.

La infección gonocócica puede ascender a las trompas uterinas y ser causa de salpingitis y salpingitis-peritonitis así como periapendicitis y perihepatitis (Síndrome de Fitz-Hugh-Curtis). En ocasiones existen formas diseminadas de la infección gonocócica (artritis, lesiones cutáneas, endomiocarditis y meningitis) La gonorrea de las mujeres suele ser asintomática y si no se tratan tienen tendencia a contaminar a sus hijos durante el parto y tienen más riesgo de desarrollar infecciones diseminadas, especialmente en el segundo y tercer trimestres.

TRICHOMONA VAGINALIS

La tricomona es un protozoario que causa una secreción vaginal fétida amarillo verdosa con irritación vulvar, tiende a ser peor después de la menstruación o durante el embarazo y el pH de la vagina usualmente es mayor de 5,0. El compromiso de la vulva puede producir ardor con la micción, lo cual está asociado con una vulvitis severa, la inspección de la mucosa vaginal revela un eritema vaginal generalizado con múltiples petequias (manchas en fresa), el diagnóstico se confirma por el hallazgo de un organismo flagelado móvil en una muestra de la secreción vaginal.[37]

Este protozoario es ovoide, flagelado y móvil, de 15 a 20 μ., de longitud y de 8 a 10μ de ancho, aunque se describen formas más pequeñas. Provoca la aparición de flujo vaginal amarillo espumoso asociado a ardor, prurito vaginal, dispareunia y a veces fetidez. La mucosa vaginal se encuentra enrojecida de forma difusa con áreas de punteado petequial en vagina y cuello que casi siempre es

patognomónico (vagina fresa). El meato uretral externo está congestionado y tumefacto.[16]

Al observar exudado en fresco al microscopio en un porta objeto previamente calentado y cubierto por un cubre-objeto. Se reconoce el parásito en movimiento. También puede ser un hallazgo con la coloración de Papanicolaou para estudio citológico.[20]

OTRAS CAUSAS

1. Mucorrea cervical o secreción vaginal epitelial: se debe a la presencia de ectropion y a la adenosis vaginal. Se trata de un flujo mucoide claro no pruriginoso ni mal oliente, puede ser profuso y tiene un aspecto que ocasionalmente hace que se confunda con el flujo producido por la candidiasis, pero en este caso el pH vaginal es normal y no hay leucocitosis

2. Oxiurasis: puede causar infestación vaginal llevando a una vaginitis, principalmente en las niñas. La fuente de la infección es fecal y se manifiesta con intenso prurito perineal. El diagnóstico se hace por examen microscópico.

3. .Entamoeba histolytica: es más común en los países en vía de desarrollo. Los síntomas se deben principalmente al compromiso de la piel de la vulva. Los trofozoitos se pueden encontrar en el extendido vaginal.

4. Vaginitis inflamatoria descamativa: es similar a la atrofia vaginal de la mujer posmenopáusica pero ocurre en mujeres premenopáusicas, su causa es desconocida. La paciente refiere leucorrea, molestia vaginal y manchada intermenstrual. La secreción contiene células epiteliales inmaduras y leucocitos sin una causa identificable. Se pueden producir sinequias que causan obstrucción parcial de la vagina y responde muy poco al tratamiento

5. Ulceras vaginales: la mayoría son causadas por el mal uso de los tampones vaginales

6. Vaginitis enfisematosa: Este desorden se caracteriza por presentar múltiples estructuras quísticas llenas de gas en la mucosa vaginal y cervical y usualmente se acompaña de infección por *G. vaginalis*, *T. vaginalis* o ambas. Este proceso es una rara manifestación de estas infecciones; las ampollas desaparecen al erradicar a estos microorganismos. [25]

LEUCORREA EN LA INFANCIA

La mayor parte de los problemas que se presentan en el aparato reproductor de las niñas se localizan en la vulva o en la vagina y casi todos los diagnósticos se pueden hacer mediante simple examen visual que además, se completa con un estudio de secreciones vulvouretrales aunque no son representativos del microorganismo patógeno vaginal.[36]

Para tomar una muestra intravaginal se usa una técnica con catéter dentro de una sonda con lo que se logra un estudio más completo.Si se requiere observar el conducto vaginal, el instrumento ideal es un vaginoscopio y en su defecto el cistoscopio pediátrico, o un histeroscopio.

La vaginoscopía puede hacerse en el consultorio si la niña coopera y sobre todo la madre; si esto no es posible y el caso lo exige, la exploración se hará en cirugía de corta estancia y bajo anestesia general.[1]Hay que hacer una última consideración cuando la vaginoscopía es normal y la leucorrea es persistente y abundante: podemos pensar que la secreción provenga de un órgano anómalo, como es un conducto de Müller rudimentario o un uréter ectópico.[26]

PRUEBAS DE DIAGNOSTICO DE LABORATORIO
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. Poe 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.[6]

Permite detectar la reacción inflamatoria y visualizar hongos y parásitos.[10]

Células clave

Se trata de células epiteliales escamosas con tantas bacterias adheridas a su superficie que el bordede las células se torna oscuro. Las células vaginales epiteliales generalmente tienen bordes característicos.

La presencia de células clave (clue cells) en el examen en fresco, se detecta diluyendo la secreción en 1 ml de solución salina y observando al microscopio, aunque en ocasiones, no se aprecian probablemente porque algunas pacientes presentan una afección crónica y por consecuencia hay producción de inmunoglobulinas localmente, la cual bloquea la lesión de las bacterias a la célula a través de la interacción con proteínas de superficie, mientras que otros biotipos registran en el cuadro una elevada actividad de enzimas que provoca la

disminución de inmunoglobulinas y por ende de la respuesta inmunitaria del hospedero. [17]

TINCIÓN DE GRAM (TINCIÓN DIFERENCIAL)

Es la más utilizadaen 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 pectidoglicánes 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.

Test de KOH aminas volátiles.

La alcalinización del flujo vaginal al agregarle a este una gota de KOH al 10% puede volatilizar las aminas y producir el clásico olor a pescado. La prueba de liberación de aminas positiva (trimetilamina, putresina y cadaverina) se realiza mezclando la muestra vaginal con algunas gotas de hidróxido de potasio (KOH) al 10% (prueba de Whiff o prueba de aminas); al alcalinizar el medio se liberan aminas y ácidos grasos, dando un olor típico de aminas perfumadas. No se produce olor en ausencia de vaginitis bacteriana (VB)**.**[19]

El KOH disuelve más rápidamente los elementos celulares que los hongos (protegidos por la pared celular). Y permite observar, levaduras y seudohifas de hongos compatibles con *Candida Albicans.*[27]

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 más 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).[3]

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.

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. A la determinación de la especie se puede llegar según diversos sistemas (manuales de identificación, comerciales, etc.).[13]

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 ($H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2} O_2$).

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.*[11]

PRUEBA DE LA COAGULASA

La coagulasa es una enzima producida por *S. aures,* 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.[11]

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.

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.[24]

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 decarbono para su metabolismo.El medio utilizado para la fermentación del citrato contiene sales de amonio inorgánicas, Si un microorganismo escapaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono para su metabolismo, utiliza también las sales de amoniocomo su única fuente de nitrógeno. Las sales de amonio se desdoblan en amoniaco (NH3) provocando laalcalinidad 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. (-) *EcherichiaColi.*[14]

b) Descomposición de carbohidratos aminoácidos y otros

PRUEBA DE PRODUCCIÓN DE INDOL (IND)

Esta prueba determina la capacidad de un microorganismo de formar indol a partir de una molécula de triptófano.Esta reacción es catalizada por un conjunto de enzimas que reciben el nombre de triptofanasa. El producto formado, el indol, es revelado mediante la adición de un reactivo, el reactivo de Kovacs.

Interpretación

Color inicial: Incoloro

Prueba positiva: Anillo rosa en superficie.Especies con prueba positiva: *E. coli, K. oxytoca, P. vulgaris*

Prueba negativa: Incoloro. [20]

PRUEBAS DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SULFHIDRICO (SH2)

Esta prueba determina si se ha liberado ácido sulfhídrico por acción enzimática a partir de los aminoácidos que contienen azufre (cistina, cisteina y metionina), produciendo junto con determinados indicadores presentes en elmedio, un precipitado visible de color negro

Interpretación

Color inicial: Incoloro

- Prueba positiva*:* Negra, Géneros con prueba positiva *Proteus, Salmonella, Citrobacter*
- Prueba negativa: Incoloro, grisáceo [20]

PRUEBA DE LA FENILALANINA DESAMINASA

Determinar la capacidad de un microorganismo para desaminar la fenilalanina a ácido fenilpirúvico por vía enzimática, con la producción de acidez. El objetivo de esta prueba es ayudar a la diferenciación entre géneros o la diferenciación de especies dentro de un género de la familia enterobacteriae. Se utiliza el medio fenilalanina, distribuidos en tubos de ensayo alrededor de 4 o 5 ml, solidificado en posición de pìco de flauta.

INTERPRETACIÓN

Agregar 4 o 5 gotas del reactivo directamente al tubo inoculado.

- Positivo: color verde pálido a intenso en el pico de flauta.
- Negativo: sin cambios de color, permanece amarillo debido al color del reactivo FeCl3. [20]

PRUEBA DE LIA (LYSINE IRON AGAR Ó AGAR LISINA HIERRO)

Esta prueba permite diferenciar los microorganismo que producen descarboxilación o desaminación de la lisina. Se pude detectar además la producción de SH2 y es más sensible que el TSI para la detección de SH2. Es muy utilizado para descartar Salmonella de aislamientos primaros.[3]

Estas pruebas determinan la presencia de estas dos enzimas, capaces de descarboxilar los aminoácidos lisina yornitina dando lugar a dos sustancias, cadaverina y putrescina de carácter alcalino, que en presencia de unindicador da lugar a la aparición de un color púrpura.

Interpretación

- Azul (alcalino): Hay movilidad
- Rojo: No hay movilidad
- Enegrecimiento: Descarboxilaornitina
- Ruptura del Agar: No descarboxila
- Fondo Amarillo y Tendido púrpura: Descarboxilación de lisina. [21]

c) 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 SH2.

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 SH2. 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 desprendimientode SH2 que se traduce por un ennegrecimiento del medio debido a la formación de un sulfuro metálico, al reaccionarel SH2 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 pequeñacantidad de glucosa se consume rápidamente en la superficie que se realcaliniza por el ataque a la peptona (en casode lactosa -)Esta fermentación puede estar acompañada con producción de gases o no (H2 y CO2) que se observa por laformación 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 zonainclinada es alcalina (roja) lo que indica degradación aeróbica de la glucosa ya que la concentración de glucosa en elmedio (0,1%) es baja y el organismo la ha consumido y empieza a utilizar las peptonas como nutrientes para sucrecimiento, esta utilización de la peptona

produce liberación de NH3 dando pH alcalino con el rojo de fenolincorporado 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 deincubación 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 elmedio. Si la zona inclinada es alcalina y la zona profunda alcalina, se trata de un organismo que degrada la peptonatanto aeróbica como anaeróbicamente. Si la zona inclinada es alcalina y la zona profunda sin cambio, es un organismoque sólo utiliza la peptona aeróbicamente. Cuando las peptonas son degradadas se produce un pH alcalino por laliberación 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.[3]

DETERMINACIÓN MICOLÓGICA

PRUEBA DEL TUBO GERMINAL O FILAMENTACIÓN PRECÓZ

Un tubo germinal se define como una extensión filamentosa de una célula de levadura que mide alrededor de la mitad del ancho y de tres a cuatro veces el largo de la célulamadre.

Sólo *C. albicans* es capaz de producir verdaderos tubos germinales; sin embargo, otras especies como *C. tropicalis* pueden producir pseudohifas precoces de aspecto similar a los tubos germinales pero con una zona de constricción característica adyacente a la célula madre, por lo que esta prueba es útil para diferenciar *C. albicans* del resto de las especies de *Candida*, aunque no está exenta de falsos negativos.

Además de la técnica con suero, el test de filamentación puede realizarse utilizando otros medios de cultivo:

- Plasma de conejo
- Medio de cultivo sólido Oxgall-Tween-ácido cafeico (TOC)

Interpretación

- POSITIVA.- Cuando se observa la formación en las células de cortos filamentos hifales en forma de dedo de guante, llamados tubos de germinación. Estos tubos son prolongación de las células sin separación ni membrana visible.
- FALSOS NEGATIVOS

    - Aproximadamente un 5% de cepas de *C. albicans* son negativas para tubos germinales.
    - Si se utiliza un inóculo demasiado abundante de levaduras, también pueden obtenerse falsos resultados negativos.

NEGATIVA.-Cuando no hay formación de tubos germinales [7]

MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO

El presente estudio se encuadra en uno de tipo de estudio descriptivo, interpretativo y transversal, el mismo que se realizó en las niñas de 5 -10 años que acudieron a centros de salud 1, 2 y 3 de la ciudad de Loja, durante el período de Abril – Julio 2010.

ÁREA DE ESTUDIO

El presente trabajo se realizó en niñas de los Centros de Salud 1, 2 y 3 de zona urbana de la ciudad de Loja.

UNIVERSO

Se utilizó el 100% de las niñas que acuden a los Centros de salud № 1, 2 y3 de las zonas urbanas de la ciudad de Loja durante el periodo de Abril – Julio 2010.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Se incluyeron a todas las niñas de 5 a 10 años de edad que asistieron en el periodo de Abril – Julio 2010 a los Centros de Salud N. 1, 2 y 3 y que acudieron en las condiciones necesarias para el examen de secreción vaginal solicitado por el médico tratante.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se excluyeron niñas mayores de 10 años de edad, que se hayan realizado un aseo genital previo y que se hayan encontrado en tratamiento con antibióticos.

TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS DE DATOS Y TABULACIÓN DE DATOS.

Realizado el procesamiento de la información con los instrumentos correspondientes se realizó el procedimiento de la siguiente manera:

- De los resultados determinados se obtuvo los datos tales como frecuencia, porcentaje, moda o mediana para su análisis.

- Se tabularon los datos numéricamente en porcentajes con los que se construyeron las tablas de frecuencias simples.

- Análisis e interpretación de los resultados contrastando o comparando con la teoría de los autores, para poder elaborar las conclusiones y recomendaciones.

PROCEDIMIENTO

- Autorización de los Directores de los Centros de Salud para realizar los análisis a las niñas de los Centros de Salud 1, 2 y 3 del sector urbano de la ciudad de Loja. (ANEXO № 1, 2, 3)

- Información a los padres de familia sobre las condiciones de la toma de muestras. (ANEXO № 4)

- Obtención de información de las niñas atravéz de la aplicación de una encuesta para los criterios de inclusión y exclusión.(ANEXO № 5)

- Identificar los agentes causales de leucorrea utilizando como espécimen biológico la secreción vaginal en las niñas, realizando el estudio físico, microscópico y bacteriológico, fresco, KOH, tinción de gran y cultivos mediante la utilización de agar sangre, agar macConkey.

- Interpretación de los resultados y difusión del trabajo de investigación en las tres Áreas de Salud de la ciudad de Lojamediante la entrega de un tríptico informativo. (ANEXO № 6)

PROCEDIMIENTOS

TOMA DE MUESTRA DE SECRECIÓN VAGINAL

IMPORTANCIA CLÍNICA

La secreción vaginal es la excreción de unas sustancia producto de la mezcla de la secreción del cuello del útero y las células descamadas descompuestas por la acción bacteriana a través de la vagina. Habitualmente la secreción vaginal está colonizada por bacterias productoras de ácido láctico, constituyéndose en un mecanismo de defensa inespecífico frente a las infecciones ascendentes. Influye también la situación hormonal la misma que proporciona humedad y pH adecuado para el establecimiento de una flora bacteriana normal. Normalmente la secreción es de color blanquecino y existen etapas fisiológicas donde se hipersecreta como en la ovulación, y disminuye en la fase posmenstrual.

Condiciones previas:

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

MATERIALES	SUSTANCIAS
• Camilla ginecológica	Suero fisiológico
• Hisopos	
• Tubos con corcho	
• Tubo con 1 ml de suero fisiológico	
• Pipeta	

- Puntas descartables.
- Placas porta objetos
- Lápiz graso

TÉCNICA

- ✓ Con la paciente en posición ginecológica
- ✓ Recoger la muestra, bajo visión directa, con un hisopo solo de los labios de la vagina de las niñas
- ✓ Repetir la operación con un segundo hisopo.

Niñas. Cuando se logra la colaboración de la paciente, es preferible la posición ginecológica. Si ello no es posible, un ayudante debe tomar la pierna y flexionarlas sobre el abdomen para descubrir la zona genital. El operador se coloca frente a la paciente y se debe efectuar las siguientes operaciones:

- Separar labios mayores-e introito vaginal.
- Tomar material de la vulva de forma rutinaria pues casi siempre se trata vulvovaginitis y es importante comparar las floras microbianas de la vulva y de la vagina,
- Cuando el himen es complaciente, tomar material de la vagina con hisopo tratado estéril; si el himen no es complaciente, se tomará la secreción que fluye espontánea.

El material sustraído se suspende en tubos con 1 ml de solución salina (estéril). A partir de uno de los hisopos se efectúa la observación en fresco, con otro se realiza la prueba de aminas, que da positiva cuando se obtiene un olor característico de aminas volátiles, y luego se efectúa tres extendidos destinados a las coloraciones. Para ello se realizan tres impresiones sobre cada portaobjetos; se evita el depósito masivo de material y se deja secar. El otro tubo se destina a los cultivos. Estos deben efectuarse inmediatamente. En caso contrario o si es

necesario remitirlo para su estudio, se coloca el hisopo en medio de transporte de Stuart.[12]

PROTOCOLO PARA EL EXAMEN FRESCO DE SECRECIÓN VAGINAL

Definición

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 Vaginales.

MATERIALES	SUSTANCIAS
• Placa porta objetos • Lámina cubreobjetos • Pipeta y puntas descartables • Microscopio	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.[12]

PROTOCOLO PARA DETERMINACIÓN DE KOH EN SECRECIÓN VAGINAL

DEFINICIÓN

Puede utilizarse para examinar muestras clínicas con abundantes células y restos celulares. El KOH disuelve más rápidamente los elementos celulares que los hongos (protegidos por la pared celular).

El efecto clarificador del KOH puede aumentarse calentando ligeramente la preparación. Si no se utiliza con colorantes, las preparaciones deben estudiarse con un microscopio convencional con luz reducida para aumentar el contraste o con un microscopio de contraste de fases.

La observación de fragmentos de hifas tabicadas y ramificadas en ángulo agudo es sugestiva de *aspergilosis.* Esta técnica es más rápida que la tinción de Gram pero presenta los mismos problemas de especificidad para diferenciar hongos con morfología similar

MATERIALES	**SUSTANCIAS**
• Placa porta objetos	KOH al 10%
• Lámina cubreobjetos	
• Pipeta y puntas descartable	
• Microscopio	

Este examen nos permitiráobservar la presencia de hongos, levaduras e hifas.
Hidróxido de Potasio (KOH):

- ✓ **KOH al 10%:** 10g de Hidróxido Potásico granel + 100 ml de Agua destilada.

  Aminas: Percibir el desprendimiento de olor a “pescado” lo que significa POSITIVO para *Gardnerella Vaginal*

- ✓ **KOH al 20%:** 20g de Hidróxido Potásico granel + 100 ml de agua destilada. Disuelve la keratina y las hifas se pueden visualizar mejor, conjuntamente con las levaduras y esporas.

PROCEDIMIENTO

- Colocar en un porta objetos una gota de la muestra de secreción disuelta en solución fisiológica mas una gota de KOH al 20% y sobre ésta un cubre objetos para observar en el microscopio,

  Al observar al microscopio se podrá identificar las diferentes estructuras de los hongos que se encuentran presentes en la muestra.[12]

- En otra placa porta objetos colocamos una gota de la muestra de secreción mas una gota de KOH al 10%, mezclamos y percibimos en la placa el desprendimiento o no de un olor característico a “pescado”.

PROTOCOLO PARA LA TINCIÓN DE GRAM

Definición

La tinción de Gram o coloración Gram es un tipo de tinción diferencial empleado en microbiología para la visualización de bacterias, sobre todo en muestras clínicas.

Se utiliza tanto para poder referirse a la morfología celular bacteriana como para poder realizar una primera aproximación a la diferenciación bacteriana, considerándose Bacteria Gram positiva a las bacterias que se visualizan de color moradas y Bacteria Gram negativa a las que se visualizan de color rosa o rojo.

MATERIALES

- Pipetas graduadas

- Balanza
- Espátula
- 3 Erlenmeyer 1000ml.
- Recipientes de color obscuro

SUSTANCIAS 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.

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.[12]

PROTOCOLO DE CULTIVOS

AGAR SANGRE.

El agar sangre es un medio enriquecido utilizado para el cultivo de microorganismos exigentes, adecuado para la determinación de reacciones hemolíticas típicas. El agar sangre se puede preparar con diferentes medios base: agar Columbia, Agar tripticasa de soja, etc. Estas bases deben permitir el crecimiento de microorganismos exigentes sin interferir en sus reacciones de hemolisis.

ESPECIFICACIONES

La Base de Agar Sangre es un medio utilizado para el aislamiento y cultivo de una amplia variedad de microorganismos, adicionado de sangre es útil para el cultivo de microorganismos fastidiosos. Este medio también es conocido como BAB por sus siglas en inglés.

La infusión de músculo de corazón y la peptona de caseína proporcionan la fuente de nitrógeno, carbono, aminoácidos y proteínas. El extracto de levadura provee vitaminas y aminoácidos esenciales. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar es usado como agente solidificante. Este medio está relativamente libre de azúcares reductores los cuales interfieren en las reacciones

hemolíticas de estreptococos. El patrón de las reacciones hemolíticas puede variar dependiendo del tipo de sangre utilizada.

MATERIALES

- Espátula
- Papel filtro
- Gazas
- Papel aluminio
- Balones aforados
- Pipetas graduadas
- Cajas Petri
- Tubos
- Papel periódico
- fósforos

SUSTANCIAS

Agua destilada

REACTIVOS

- Infusión de Músculo de Corazón 2.0
- Extracto de Levadura 5.0
- Cloruro de Sodio 5.0
- Agar Bacteriológico 15.0
- Digerido Pancreático de Caseína 13.0
- Bacteriológico 15.0
- pH 7.3 ± 0.2

EQUIPOS

- autoclave
- Mechero
- Balanza analítica
- Refrigeradora (Almacenamiento2 - 30°C.)[12]

PROCEDIMIENTO

- Suspender 40 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión).
- Enfriar a una temperatura entre 45-50 °C y añadir, de preferencia, sangre de carnero estéril y desfibrinada al 5%.
- Homogeneizar y vaciar en placas Petri estériles.

Almacenamiento: 2 - 30°C. [12]

AGAR MAcCONKEY.

Es un medio selectivo diferencial para el cultivo de Enterobacterias. Los organismos fermentadores de la lactosa producen colonias rosas o rojas que pueden estar rodeadas de una zona de bilis precipitada:

Los organismos no fermentadores de la lactosa forman colonias incoloras y transparentes. La flora gram positiva es inhibida por el cristal violeta. Se utiliza con frecuencia para el aislamiento de coliformes.

MATERIALES

- Espátula
- Papel filtro
- Gasas
- Papel aluminio
- Balones aforados
- Pipetas graduadas
- Cajas Petri
- Tubos de ensayo
- Papel periódico
- fósforos

REACTIVOS

- Digerido pancreático de gelatina 17,0 g
- Digerido pancreático de caseína 1,5 g
- Digerido péptico de tejido animal 1,5 g
- Lactosa 10,0 g
- Mezcla de sales biliares 1,5 g
- Cloruro de sodio 5,0 g
- Agar 13,5 g
- Rojo neutro 30,0 mg
- Cristal violeta 1,0 mg
- Agua destilada 1.000 ml
- pH final 7,1 ± 0,2

EQUIPOS

- Autoclave
- Mechero
- Balanza analítica
- Refrigeradora

PROCEDIMIENTO

- Suspender los ingredientes en el agua destilada.
- Calentar agitando frecuentemente y dejar hervir hasta disolver completamente.
- Esterilizar en autoclave a 121ºC (15 lb de presión) durante 15 minutos.
- Se debe evitar el sobrecalentamiento.
- Enfriar entre 45ºC y 50ºC, colocar 20 ml de medio por cada placa y dejar solidificar.

Método para realizar la inoculación estriación en placa

- Esterilizar el asa hasta que se ponga al rojo
- Tomar la porción de la muestra con el asa, y depositarla en un punto cerca de la periferia de la placa de siembra
- A partir del punto de inoculación comenzar a estriar haciendo líneas horizontales, separadamente sin volver sobre las mismas. En el primer cuadrante de la caja.
- Rotar la caja hacia la izquierda seguir estriando en varias finesa horizontales, paralelas en el segundo cuadrante. Luego, estrías los cuadrantes restantes, y hacer una sola raya en el centro, esterilizar el asa y guardarla
- Incubar la caja invertida por 24 hrs. Para observar el crecimiento bacteriano.
- Observar luego del tiempo de incubación de la estufa cono se realizo el crecimiento bactriano si se trata de recuento se realiza la cuantificación, si es de multiplicación se comprueba el desarrollo y se procede a realizar el frotis de las diferentes colonias para su identificación.[12]

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Fundamento.

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

Para realizar las pruebas bioquímicas se dispone de múltiples medios, los cuales se deben aplicar de acuerdo a las exigencias del microorganismo en estudio.

PREPARACIÓN 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; por ejemplo, ¿fermentadora la lactosa? 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.

MATERIALES

- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Lámpara de alcohol
- Algodón
- Espátula
- Balones aforados
- Pipetas graduadas
- Gasa
- Agitador
- Fósforo

REACTIVOS

- Agua destilada
- Reactivos deacuerdo a cada medio de prueba bioquímica

EQUIPOS

- Autoclave
- Mechero
- Balanza analítica

PROCEDIMIENTO

- Preceder a sembrar la bacteria en un agar MacConkey, 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.

PROTOCOLOS PARA LA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA EN DE SECRECIÓN VAGINAL

PRUEBA DE LA CATALASA Y PEROXIDASA.

Fundamento

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

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

  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* (+)(**1**) de *Erysipelothrix* (-)

Precauciones

Si tomamos la colonia de un agar sangre, hemos de tener en cuenta que si tocamos el agar podemos arrastrareritrocitos que, al poseer catalasa, pueden dar positiva la prueba, dando lugar a falsos positivos.
Las colonias viejas pueden perder su actividad para la catalasa.
La quemadura con agua oxigenada al 30% debe lavarse con alcohol etílico de 70º, no con agua.[12]

PRUEBA DE LA COAGULASA

Fundamento

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.

MATERIALES

- Asa bacteriológica
- Lámpara de alcohol
- Algodón
- Fósforo
- Porta objetos
- Palillos

Tabla de interpretación bacteriana

REACTIVOS

Reactivo oxidasa Kovacs al 1%.

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

NOTA: El reactivo de Kovacs es más sensible, más rápido y menos tóxico que otros reactivos que se pueden utilizar.

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* (-).

Precauciones:

- La utilización de asas de hierro puede dar pruebas falsamente positivas.
- Los compuestos p-fenilendiamina son relativamente inestables y pierden su actividad si son expuestos a la luz.

- No debe realizarse una prueba de oxidasa de las colonias cultivadas en un medio que contenga glucosa, pues su fermentación puede inhibir la actividad de la enzima oxidasa y dar lugar a falsos negativos.
- Las especies de *Pseudomonas* producen una sustancia inhibidora que impide la producción de oxidasa en las especies de *Neisseria*; por esta razón pueden producirse resultados falsamente negativos si un cultivo mixto contiene especies de ambos géneros.
- Rotular el reactivo como Reactivo oxidasa de Kovacs para evitar la confusión con el Reactivo de indol de Kovacs.
- Después de la adición del reactivo sobre las colonias sospechosas, una coloración negra en el medio que rodea a las colonias, pero no en éstas, debe ser considerada como una prueba de oxidasa negativa.
- Con el método directo en placa es posible recuperar colonias oxidasa positivas mientras son viables. [12]

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD

PROTOCOLO PARA LAPRUEBA DE LA SENSIBILIDAD A LA NOVOBIOCINA.

Fundamento

Varias especies del Género *Staphylococcu*s 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

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 contactocompleto 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.[12]

PRUEBA DE PRODUCCIÓN DE INDOL (IND)

Fundamento

Esta prueba determina la capacidad de un microorganismo para separar indol a partir del triptófano. Algunas bacterias gracias a la enzima triptofanasa hidrolizan el aminoácido, dando indol, ácido pirúvico y amoniaco. La presencia del indol se detecta observando la formación de una coloración rosa-roja en el medio al añadir para-dimetilaminobenzaldehído.

El objetivo de esta prueba ayudar en la diferenciación e identificación de especies de la familia de enterobacteriae junto con otras pruebas bioquímicas. El medio de cultivo que se utiliza es el de triptófano o peptona, medio de caseína, distribuidos en tubos de ensayo alrededor de 4 ml.

MATERIALES	**REACTIVOS**
Tubos de ensayo	reactivo de Ehrlichó reactivo de indol de kovacs.
Gradilla	
Asa bacteriológica	
Lámpara de alcohol	
Algodón	
Fósforo	
Porta objetos	
Palillos	
Incubadora	
Tabla de interpretación bacteriana	

PROCEDIMIENTO

- Agregar 5 gotas del reactivo directamente a un tubo inoculado durante 24 o 48 horas, agitar el tubo suavemente.

INTERPRETACIÓN

Positivo: en segundos aparece un anillo rojo en la interface del medio.
Negativo: no hay ningún desarrollo de color, o aparece un anillo turbio toma el color del reactivo de kovacs o Ehrlich (amarillo) [12]

PRUEBAS DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SULFHIDRICO (SH_2)

Principio

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 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
- Tabla de interpretación bacteriana

PROCEDIMIENTO

- Por punción profunda con aguja de inoculación.
- En aerobiosis, durante 24 horas a 35-37 °C.

INTERPRETACIÓN.

Positivo: Cualquier ennegrecimiento del medio o a lo largo de la línea de siembra, o en todo el fondo.
Negativo: Ausencia de ennegrecimiento.[12]

PRUEBA DE LA FENILALANINA DESAMINASA

PRINCIPO.
Determinar la capacidad de un microorganismo para desaminar la fenilalanina a ácido fenilpirúvico por vía enzimática, con la producción de acidez. El objetivo de esta prueba es ayudar a la diferenciación entre géneros o la diferenciación de especies dentro de un género de la familia enterobacteriae. Se utiliza el medio fenilalanina, distribuidos en tubos de ensayo alrededor de 4 o 5 ml, solidificado en posición de pìco de flauta.

MATERIALES	REACTIVOS
• Tubos de ensayo	Cloruro férrico al 10%

- Gradilla
- Asa bacteriológica
- Lámpara de alcohol
- Algodón
- Fósforo
- Porta objetos
- Palillos
- Tabla de interpretación bacteriana

Sulfato de hierro y amonio.

Agua destilada

PROCEDIMIENTO

- En el Caso de la fenilalanina desaminasa se agrega cinco gotas de cloruro férrico al tubo inoculado y se espera que se produzca un anillo verde pálido, sobre el medio caso contrario la prueba es negativa ó de color de verde a azul de esta manera será la prueba positiva.

INTERPRETACIÓN

Positivo: color verde pálido a intenso en el pico de flauta.

Negativo: sin cambios de color, permanece amarillo debido al color del reactivo $FeCl_3$.[12]

PRUEBA DE LIA (LYSINE IRON AGAR Ó AGAR LISINA HIERRO)

Medio de cultivo utilizado para diferenciar microorganismos, especialmente *Salmonella spp*., basado en la decarboxilación / desaminación de la lisina y en la producción de ácido sulfhídrico.

Fundamento

En el medio de cultivo, la peptona y el extracto de levadura aportan los nutrientes para el desarrollo bacteriano. La glucosa es el hidrato de carbono fermentable, y la lisina es el sustrato utilizado para detectar la presencia de las enzimas

descarboxilasa y desaminasa. El citrato de hierro y amonio, y el tiosulfato de sodio, son los indicadores de la producción de ácido sulfhídrico. El purpura de bromocresol, es el indicador de pH, el cual es de color amarillo a pH igual o menor a 5.2, y de color violeta a pH igual o mayor a 6.8.

MATERIALESSUSTANCIAS

- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Asa bacteriológica
- Lámpara de alcohol
- Algodón
- Fósforo
- Porta objetos
- Palillos
- Tabla de interpretación bacteriana

Agua destilada

REACTIVOS

- Peptona de gelatina 5.0
- Extracto de levadura 3.0
- Glucosa 1.0
- Lisina 10.0
- Citrato de hierro y amonio 0.5
- Tiosulfato de sodio 0.04
- Púrpura de bromocresol 0.02
- Agar 15.0
- pH final: 6.7 ± 0.2

EQUIPOS

- Autoclave
- Balanza

- Mechero
- Incubadora

Características del medio

Medio preparado: color violeta.

Almacenamiento

Medio deshidratado: a 10-35 ºC.

PROCEDIMIENTO

- Suspender 35 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Dejar embeber unos 15 minutos. Calentar cuidadosamente, agitando con frecuencia y hervir durante un minuto hasta la disolución completa.
- Distribuir y esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Enfriar en pico de flauta dejando un fondo vertical apto para la punción.
- Por descarboxilación de la lisina, se produce la amina cadaverina, que alcaliniza el medio y esto produce el viraje del indicador al color violeta. La descarboxilación de la lisina, tiene lugar en medio ácido, por lo que es necesaria que la glucosa sea previamente fermentada. Los microorganismos que no producen lisina descarboxilasa, pero que son fermentadores de la glucosa, producen un viraje de la totalidad del medio de cultivo al amarillo, pero a las 24 hs de incubación se observa el pico de color violeta debido al consumo de las peptonas, y el fondo amarillo.

La producción de sulfuro de hidrógeno, se visualiza por el ennegrecimiento del medio debido a la formación de sulfuro de hierro. Las cepas de los géneros *Proteus, Providencia* y algunas cepas de *Morganella*, desaminan la lisina, esto produce un ácido alfa-ceto-carbónico, el cual, con la sal de hierro y bajo la influencia del oxígeno forma un color rojizo en la superficie del medio.

PROCEDIMIENTO

- Por punción profunda con aguja de inoculación.
- En aerobiosis, durante 24 horas a 35-37 °C.

INTERPRETACIÓN

1- Descarboxilación de la lisina:

Prueba Positiva: Pico violeta/fondo violeta.

Prueba Negativa: Pico violeta/fondo amarillo.

2- Desaminación de la lisina:

Pico rojizo/fondo amarillo. Esto sucede con cepas del género *Proteus,* Providencia y alguna cepas de *Morganella spp.*

3- Producción de ácido sulfhídrico:

Prueba positiva: Ennegrecimiento del medio (especialmente en el límite del pico y fondo)

Microorganismos	Color en el pico de flauta	Color en la base del tubo	Ennegrecimiento del medio
Proteus mirabilis ATCC 43071	Rojo	Amarillo	Negativo
Salmonella typhimurium ATCC 14028	Púrpura	Púrpura	Positivo
Salmonella enteritidis ATCC 13076	Púrpura	Púrpura	Positivo
Providencia spp.	Rojo	Amarillo	Negativo
Citrobacter freundii	Púrpura	Amarillo	Positivo
Morganella spp.*	Rojo	Amarillo	Negativo
Edwarsiella spp.	Púrpura	Púrpura	Positivo
Klebsiella pneumoniae ATCC 700603	Púrpura	Púrpura	Negativo
Echerichia coli ATCC 25922	Púrpura	Púrpura	Negativo

*Algunas especies de Morganella spp., pueden desaminar la lisina.[12]

PRUEBA DEL KLIGLER Y TSI (TRIPLE AZÚCAR HIERRO)

Fundamento.

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 SH_2. 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.

MATERIALES	**SUSTANCIAS**
• Tubos de ensayo	Agua destilada
• Gradilla	
• Asa bacteriológica	
• Lámpara de alcohol	
• Algodón	
• Fósforo	
• Porta objetos	
• Palillos	
• Tabla de interpretación bacteriana	

REACTIVOS

- Peptona de carne 13.0
- Cloruro de sodio 5.0
- Lactosa 10.0
- Tripteina 10.0

- Glucosa 1.0
- Citrato de hierro y amonio 0.5
- Tiosulfato de sodio 0.3
- Rojo de fenol 0.025
- Agar 15.0
- pH final: 7.3 ± 0.2

EQUIPOS

- Autoclave
- Balanza
- Mechero
- Incubadora

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 bacterias no fermentadoras como *Pseudomona ssp.*

- **Pico alcalino/fondo ácido:** Glucosa fermentada, lactosa 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.[12]

DETERMINACIÓN DE HONGOS

PROTOCOLO PARA LA PRUEBA DEL TUBO DE GERMINACION (TEST DE FILAMENTACION)

PRINCIPIO

Es una prueba de gran valor para la identificación rápida y presuntiva de *Candida albicans,* que con *Candida stellatoidea* son las únicas levaduras del género candida capaces de producir tubos germinales.

Materiales

Tubos de ensayo
Gradilla
Lámpara de alcohol
Asa bacteriológica
Fósforo
Hisopo estéril
Incubadora
Lápiz graso

Sustancias

Suero humano (c. bacteriano)
Medio de Sabouraud

Procedimiento

- Realizar un inoculo de secreción vaginal en unos cinco cm. De suero humano incubado en un periodo de 2-4 hs. como mínimo. Una vez logrado el desarrollo del agente microbiano se observa turbidez.
- Ambientar el agar Sabouraud medio propio para desarrollo y cultivo de hongos.
- Realizar la inoculación del microorganismo sobre la superficie del medio

realizando estriaciones con el asa bacteriológica o con un hisopo estéril.

- Invertir el medio luego de la incubación a 37 ^{0}C. por 24 horas para el desarrollo de los hongos
- Revisar el medio inoculado y se observa la morfología de las colonias que tiene aspecto blanquecino y pastosa.
- Tomar una muestra de las colonias y diluir en una gota de agua destilada y examinar al microscopio con 400 aumentos una gota de la suspensión entre porta y cubre.
- A la observación microscópica se observa esporas levaduras y filamentos que nos permite identificar la *C albicans.*

Interpretación.

- POSITIVA.- Cuando se observa la formación en las células de cortos filamentos llamados tubos de germinación.
- NEGATIVA.-Cuando no hay formación de tubos germinales o células en forma de guantes.[12]

RESULTADOS

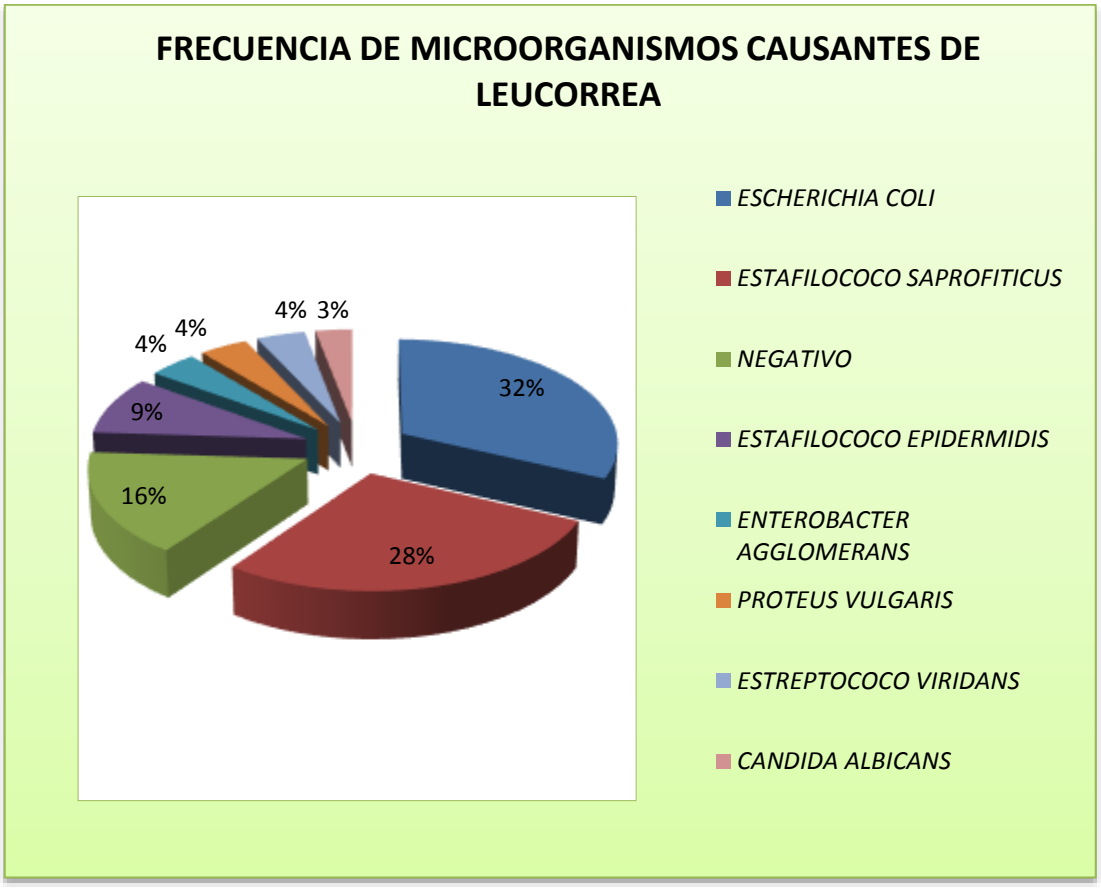
"IDENTIFICACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE LEUCORREA EN NIÑAS DE 5 – 10 AÑOS QUE ACUDEN A LOS CENTROS DE SALUD N. 1, 2 Y 3 DE LA CIUDAD DE LOJA "

Tabla Nº 1

FRECUENCIA DE MICROORGANISMOS CAUSANTES DE LEUCORREA EN NIÑAS QUE ACUDEN A LOS DISTINTOS CENTRO DE SALUD DE LOJA

MICROORGANISMO	PORCENTAJE	FRECUENCIA
Echerichia coli	32%	32
Estafilococo saprofiticus	28%	28
Negativo	16%	16
Estafilococo epidermidis	9%	9
Enterobacter agglomerans	4%	4
Proteus vulgaris	4%	4
Estreptococo viridans	4%	4
Candida albicans	3%	3
TOTAL	100%	100

Gráfico Nº 1



Fuente: Pruebas realizadas en niñas que acudieron a los Centros de Salud № 1, 2, y 3 de la ciudad de Loja

Elaboración: Ada Ordoñez Hoyos

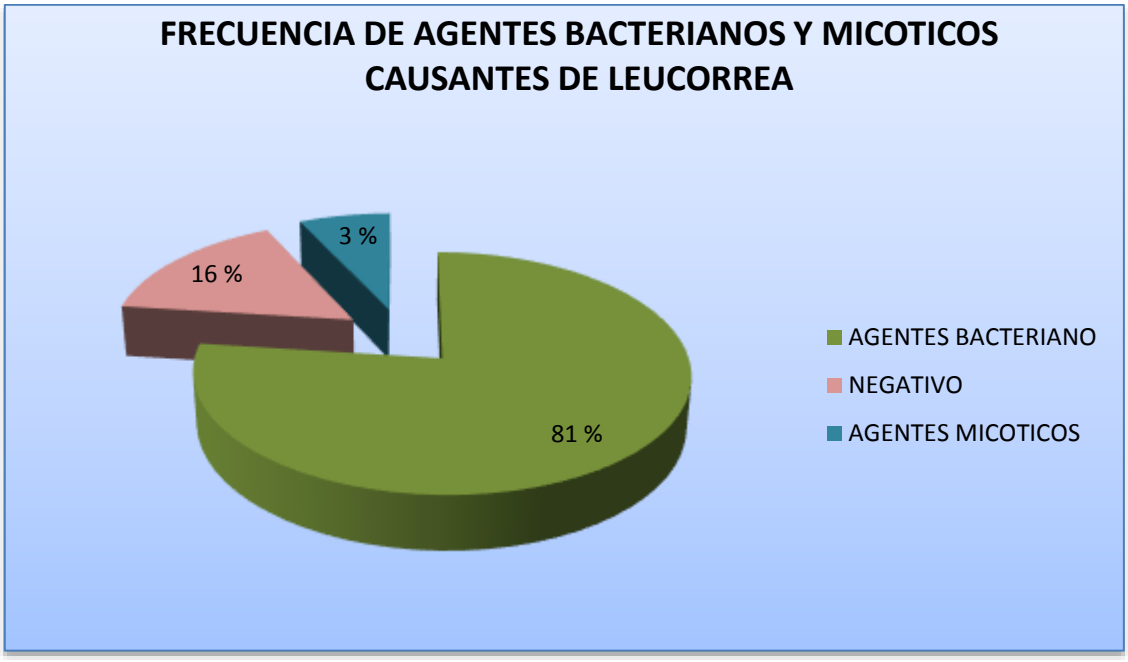
Análisis de los Resultados: De las 100 niñas que acudieron a los Centros de Salud Nº 1, 2 y 3 durante el periodo Abril – Julio 2010 tenemos que la mayor frecuencia de microorganismos causantes de leucorrea con un 32 % es la *Echerichia coli,* con un 28% el *Estafilococo saprofiticus*, 16 % Sin Crecimiento Bacteriano, 9%, *Estafilococo epidermidis,* en un 4% el *Enterobacter agglomerans, Proteus* vulgaris y *Estreptococo viridans,* y finalmente en un 3% la *Candida albicans.*

FRECUENCIA DE AGENTES BACTERIANOS Y MICÓTICOS CAUSANTES DE LEUCORREAS EN NIÑAS QUE ACUDEN A LOS DISTINTOS CENTROS DE SALUD DE LA CIUDAD DE LOJA

Tabla Nº 2

AGENTES CAUSANTES DE LEUCORREA	FRECUENCIA	PORCENTAJE
AGENTES BACTERIANO	77	81 %
NEGATIVO	16	16 %
AGENTES MICOTICOS	7	3 %
TOTAL	100	100%

Gráfico Nº 2



Fuente: Pruebas realizadas en niñas que acudieron a los Centros de Salud № 1, 2, y 3 de la ciudad de Loja
Elaboración: Ada Ordoñez Hoyos

Análisis de los Resultados: En la presente tabla y gráfico se observa que de las 100 niñas que acudieron a los Centros de Salud Nº 1, 2 y 3 durante el periodo Abril – Julio 2010 la mayor frecuencia de microorganismos causantes de leucorrea es el agente bacteriano con un 81 % y en un menor porcentaje están los agentes micóticos con un 3 %.

RESULTADOS DE LA DIFUSION DE LA INVESTIGACIÓN

Análisis de la difusión.- Una vez que se obtuvieron todos los resultados de la presente investigación se organizó la convocatoria a la charla informativa para la difusión de datos obtenidos en los tres centros de salud, para lo cual se puso en conocimiento de los jefes de cada Área de Salud, con la finalidad de que ellos también tengan conocimiento de los resultados de cuáles son los agentes causales de las leucorreas en niñas 5 - 10 años de la ciudad de Loja, a las mismas que asistieron representantes de cada Centro, personal de la salud, madres de familia, y comunidad en general a quienes se les hizo entrega del tríptico informativo. En el cual se resumió todo el trabajo investigativo, resultados, agentes predisponentesy prevención de esta patología.

DISCUSIÓN

En el estudio se analizó 100 muestras de niñas que acudieron a los Centros de Salud Nº 1, 2 y 3 de la ciudad de Loja; que cumplieron con los criterios de inclusión y luego de aplicar estrictos protocolos en cada una de las valoraciones se llegó a establecer que el microorganismos mayor incidencia causantes de leucorrea en niñas es la *Echerichia coli*, seguidos de otros agentes causales de menor incidencia como son: El *Estafilococo saprofiticus*, *Estafilococo epidermidis, Enterobacter agglomerans, Proteus vulgaris, Estreptococo viridans, y la Candida albicans*

La leucorrea no es una enfermedad sino un síntoma con signos clínicos característicos por lo cual se considera un síndrome, que puede observarse en niñas en nuestro medio; así como causa frecuente de consulta al médico.[31]

Al hacer un estudio comparativo de los resultados obtenidos en esta investigación con los realizados en otras investigaciones como la publicada en la Revista de la Facultad Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en el 2008, en la Revista Mexicana de Pediatría, cuyo artículo denominado "Frecuencia de vaginosis en niñas y adolescentesen un Centro de Medicina Familiar" escrito por QBP. Ma. Catalina Ortiz y otros catedráticos de la UANM;trabajo investigativo que utilizó 288 muestras de exudado vulvar de niñas comprendidas en las edades de un mes a 17 años, con diagnóstico clínico de vulvovaginitis, se obtuvieron muestras (26%) con flora normal y en (74%) hubo el desarrollo de uno a tres agentes patógenos. La prevalencia de vaginosis comprobada con los estudios bacteriológicos determino que en 145 (56.3%) muestras se identifico *E.coli,* como el primer agente causal de las leucorreas, en (33%); *Candida* spp. en (15.3%)*, Proteus (2.8%), Kleisiella (1.7%), S. agalactie (1.4%), Enterobacer spp (0.7%), Pseudomonas spp (0.7%), Alcaligenes spp (0.7%)*[18]*;* al comparar este estudio con el presente trabajo investigativo *se* determina que existe una similitud en cuanto al

agente causal *que es E.coli (32%),* mientras que los agentes causales como el *S. saprofiticus (28%), S. epidermidis (9%), el E.agglomerans,* varían en el porcentaje como la especie de bacteria *P.vulgaris, S. viridans (4%), y la Candida albicans (3%).*

En la publicación de la Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología del 2010 escrito por el Mg. Dr.Joel Varona; y otros, denominado "Vulvovaginitis en niñas y adolescentes"cuya muestra fue de 50 niñas de 0 - 11 años de edad y 50 adolescentes entre 12 - 20 años, estudio que estableció que los gérmenes etiológicos en las niñas y en las adolescentes de mayor frecuencia es la *C. albicans* con un 34% yun 36% respectivamente, seguida por la *E.coli* (22 %) en las niñas, lo cual no fue así en las adolescentes donde no sereportó ningún caso.

En Argentina en el 2005 el Dr. Laspina y colaboradores realizaron un estudio titulado″Agentes etiológicos de vulvovaginitis (VV) en niñas", estudio que utilizó a 196 niñas comprendidas entre 0 a 12 años, las cuales presentaron un diagnóstico clínico de VV y una marcada sintomatología de leucorrea, determinando que luego de los análisis correspondientes se obtuvo como agente etiológico las enterobacterias en un 18%, *Gardnerella vaginalis* en un 17% y *Candida* sp en un 13%. La frecuencia de candidiasis fue mayor en el grupo de 6 a 12 años, además *Enterococcus sp* (9%), *Staphylococcus aureus* (8%), *Haemophilus sp* (4%), *Streptococcus agalactiae* (1,5%) y *Streptococcus pyogenes* (0,6%). Las muestras fueron extraídas por hisopado de las zona genital sin utilizar espéculos. En el presente estudio, una importante cantidad de niñas compartía la cama, toallas y aún ropa interior con los hermanos/as principalmente.[30]

Al realizar la comparación de los estudios mencionados anteriormente con los resultados obtenidos en mi investigación, se puede mencionar que los resultados presentados en estos países respecto al mío son muy variables ya que como resultado obtuve como primer agente causal de mayor prevalencia en nuestro medio a la *E.coli* en un 32%, seguida del *Estafilococo saprofiticus* en un 28%,

Estafilococo epidermidis 9%, el *Enterobacter agglomerans, Proteus vulgaris, Estreptococo viridans* 4%, la *Candida albicans* 3%, finalmente el 16% de las muestras analizadasno presentaron crecimiento bacteriano. Esta variación entre estos estudios pudo darse debido a que el grupo de edad y numero de muestras utilizadas para en los estudios fueron muy disimiles además de ciertos factores de riesgo a los cuales se pudieron ver expuestas las pacientes.

Existen escasos estudios publicados sobre la flora vaginal normal o patológica en niñas, por lo que debería considerarse al mismo, más bien como instrumento de apoyo ya que cabe indicar que los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación se ajustan a la actual realidad, los mismos que deberán de someterse a continuas actualizaciones para poder determinar la aparición de nuevos agentes cáusales de leucorrea en niñas de nuestro medio, y de esta manera dar un mejor tratamiento a esta sintomatología.

El aporte científico que brinde esta investigación, sirva para una mejor valoración de las pacientes de esta edad en condiciones de vida similar, los mismos que le servirán al profesional de la salud como un fundamento en el diagnóstico clínico de las leucorreas en niñas.

CONCLUSIONES

- Con la presente investigación se llegó a identificar los agentes causales de las leucorreas en niñas mediante pruebas directas inespecíficas y específicas son: *E coli, S. saprofiticus, S epidermidis, E.agglomerans, P. vulgaris y S. viridans,*y *C. albicans*. (GRÁFICO № 1)
- Realizado el estudio comparativo entre estudios publicados a nivel mundial y la presente investigación se llego a ala conclusión de que el principales agentes causales de las leucorreas en las niñas es el *E.coli,* asociado con un variado grupo de agentes causales que se lograron aislar que contribuyen a la presencia de leucorrea infantil,
- Se llegó a determinar que el agentes etiológicos que provocan las leucorreas en niñas en nuestra medio, que tiene mayor frecuencia es el *Echericha coli. (TABLA №1)*
- La difusión de los resultados se organizó en cadauno de los Centros de salud; en donde se dio a conocer el trabajo realizado en la investigación, y los resultados obtenidos de la misma;se impartió una charla informativa a los delegados de cada Área de Salud, médicos,personal técnico de la salud, madres de familia, estudiantes, y comunidad en general, se hizo la entrega del tríptico informativo en el que se incluyó en forma resumida todo lo relacionado con los agentes causales, factores que predisponen, síntomas, y medidas de prevención de las leucorreas en niñas.(ANEXO №12)
- Dentro de una de las propuesta de prevención es de educar a las madres atraves de la información del correcto aseo genital de las niñas, normas de aseo personal, alimentación adecuada, uso de medicamentos, y la detección temprana de la presencia de secreción vaginal en las niñas para de esta manera evitar complicaciones en el aparato genital de las niñas, atravéz de un adecuado diagnostico y tratamiento. (ANEXO № 13).

RECOMENDACIONES

- Se recomienda hacer conciencia a losmadres de familia y en general a todas las personas sobre el aseo personal en las niñas para evitar el aparecimiento de diferentes patologías.

- Enseñar a las niñas a cuidar sus genitales así como es el correcto aseo ano- genital y el adecuado uso de los inodoros.

- Dar charlas a las madres para que conozca sobre este síntoma en las niñas, dirigidas por médicos o personal de la salud del Departamento de Educación para la salud de la Dirección Provincial de salud.

- Recomendar a las madres sobre la detección temprana de la secreción vaginal en niñas para que se realice el diagnóstico y tratamiento de las leucorreas infantiles.

- Tomar conciencia que la leucorrea infantil es un síntoma de una infección vaginal que de no ser tratada a tiempo puede provocar lesiones en el aparato genital de las niñas y en casos extremos provocar una esterilidad a largo tiempo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Bajo Arenas J. LaillaVincens M. XercavinsMantosa J.** Fundamentos de Ginecología. Patología Ginecológica de la Infancia y la Adolescencia. Capítulo 20. Principales Problemas Ginecológicos en la Infancia y la Adolescencia. Vulvovaginitis. Editorial Médica Panamericana, 2009. Pág. 267

2. **Buaza M, Barberán, Sánchez B.**Enfermedades de Transmisión Sexual. Editorial Ed. Médica Panamericana. 2008. Capitulo 25. Candidiasis. Pág. 202, 203, 204.

3. **ForbesBetty A.** Diagnostico Microbiológico.Parte II. Principios Generales de Microbiología.12vaEdición.Editorial Médica Panamericana, 2009. Capitulo 7. Cultivos e Identificación tradicional. Pág. 98, 99

4. **FuerstRoberth. Microbiología.** Microorganismos patógenos. Volumen 2. 15ta Edición Editorial Interamericana, NISC Puerto Rico, 2005. España. Procedencia del original Universidad de Texas. Pág.468, 469, 49.

5. **García Rodríguez J. A. y Muñoz JJ.** Vaginosis Bacteriana: Enfermedad infecciosa o alteración ecológica. Enfermedad Infecciosa Microbiología Clínica.2005; 9 (5): 265, 67.

6. **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.pag. 20

7. **García del Valle A. Zamudio DuránM**. Manual de Prácticas de Laboratorio Clínico**.**DiagnósticoMicológico. Editorial UNAM, 2006. Pág. 182

8. **Issler Juan R. Dr.**Infecciones del Tracto Genital Inferior.Revista de Posgrado de la Cátedra VIMedicina N° 102 A.Estudio Microbiológico. Examen Fresco. Pág. 21, 38. Publicación Argentina Marzo/2007.

9. **Jean F. Mac Faddin.** Pruebas bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. Tercera edición ilustrada. Ed. Médica Panamericana. Reimpresión 2006. Capítulo VI.Pág. 73**.**

10. **KonemanElmer W.**Diagnóstico microbiológico: texto y atlas color. Pruebas de identificación bacteriana.Editorial Médica Panamericana 2008.Traducido por: Fabián Benencia. Capitulo 22. Pág. 968, 969, 970.

11. **Maldonado N., Vivar F., Vélez J.** Escenario Natural de la cultura de Loja. (Esbozo de Geografía Física y humana) Casa de la Cultura Ecuatoriana, 1^{era} ed. Sept. 2005, págs. 19, 91, 85, 208,233.

12. **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.

13. **McPherson Richard A. PincusMatthew R.Henry John Bernard.**Diagnóstico clínicoyde gestiónporlos métodosde laboratorio. 21va Edición ilustrada. Editorial Saunders Elsevier, 2007. Digitalizado 23 Julio 2008., "Las bacterias de importancia médica". Capítulo II. Pág. 222, 223, 224.

14. **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.

15. **PrastGuillermo Pastor.** Microbiología Clínica. Parte III. Técnicas de Microbiología Bacteriología. Editoria Médica Panamericana, 2006. Pág. 34, 35, 36, 36, 68.

16. **PNUD.** Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. Prevención de la Violencia Infantil. Módulo III. Salud Genital del Infante. Publicación Honduras 2007. Pág. 84.

17. **Olivas Evangelina.**Manual de Prácticas de Microbiología I y II y Parasitología.Micosis en general., Editorial UACJ.Universidad Autónoma de México 2005. Pág. 74, 75, 76, 77, 78.

18. **Ortiz. Ma. Catalina QBP y otros.** Revista de la Facultad Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en el 2008, en la Revista Mexicana de Pediatría, artículo denominado "Frecuencia de vaginosis en niñas y adolescentes en un Centro de Medicina Familiar. Revista Mexicana dePediatria. Vol.75 Nov-Dic del 2008, pág. 257, 258, 259, 260.

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

20. **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.

21. **Struthers J. Keith, Westran Roger P.**Bacteriologíaclínica. Infecciones de los sistemas genitales. Vaginitis. Elsevier España, 2005. Pág. 150, 151.

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

23. **Varona Sánchez J. Almiñaque González M. y otros.** Ginecología y Salud Reproductiva-Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología. Vulvovaginitis en niñas y adolescentes**.** Pág. 73-85- publicación enero del 2010

24. **Zaragoza Rafael**. Microbiología aplicada al paciente critico. Ed. Médica Panamericana, 2007. Técnicas de identificación. López J. CastilloF. Salavet M. Pág. 27

25. **Zeiguer N, Saveg V, Muchinik G, Galvagno A y Comparato M.** Servicio Ginecología, Hospital J.A. Fernández–IDEFE "*Chlamydia trachomatis* asociada a vulvovaginitis en niñas: Prevalencia y clínica". En: Libro de Resúmenes del XI Congreso Latinoamericano de Microbiología; 2005. Bs As Argentina.

26. **ZinsserH. Wolfgang K. Joklik, y otros.**Microbiología.20 va ed. Editorial Médica Panamericana, 2007. Pág. 550.

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

INTERNET

28. **Carrasco Lilian.**Vulvovaginitis en las niñas: Cuidado con la ropa interior Docente de la Escuela de Medicina de la U. Andrés Bello..Disponible en www.terra.cl/ZONAMUJER/index.cfm?id_reg=1037638&id_cat=2524. Chile. Publicado el 22 de Septiembre⁄2009.

29. **Jaén Andrea.** La leucorrea o secreción blanca en la vagina. www.educasexo.com/.../la-leucorrea-o-secreción-blanca-en-la vagina.html - España -marzo de 2010.

30. **Laspina F; Samudio M; Céspedes AM; González GM; Balmaceda MA.** Agentes etiológicos de vulvovaginitis en niñas.Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud.Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. Disponible en: scielo.iics.una.py/scielo.php?pid=S1812...sci..www.iics.una.py/n/pdf/revista/1.pdf –Salud v.3 n.1 Asunción Paraguay. Dic. 2005.Correo electrónicomicrobiologia@iics.una.py

31. **Monografías de Leucorrea (archivo).** Disponible en: http://www.google.com.ec/search?hl=es&q=monografia+de+leucorrea+en+ni%C3%B1as&btnG=Buscar&meta=&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs_rfai= Mayo 2004. Actualizado septiembre del 2009.

32. **Reyna Regina.** Leucorrea, Flujo Vaginal Anormal**.**Disponible en: http://www.saludymedicinas.com.mx/articulos/1817/leucorrea-flujo-vaginal-anormal/1. 2010

33. **Romero Patricia F.** Vulvovaginitis en niñas y adolescentes. Unidad de Ginecología Infantil, Hospital Luis Calvo Mackenna. Revista chilena de pediatría.v.70 n.3 www.lookfordiagnosis.com/faq.php?term=leucorrea...2.www .ciberpediatria .com. Vulvaginitis infantil. Santiago mayo 2007

34. **Rodríguez. Manuel A. Dr.** www.ciberpediatria. com. Disponible en: http://cyberpediatria.com/disuria.htm. e-mail: rodriguezlanza@cantv.net. Revisión: 07/2005.

35. **Sánchez. Hernández Marilyn Dra. y otros**. Especialista de I Grado en MGI. DEPARTAMENTO DE MGI. www.revistas de ciencias.com.Manejo del Síndrome de Flujo Vaginal. Disponible en:http://www.revistaciencias.com/publicaciones/EEFAyEAVykVQfgYuSm.php. Año 2006**.**

36. **Vázquez Benítez Efraín Dr. en C.M.** La leucorrea y su significado clínico**.** Ginecología.http://www.drscope.com/privados/pac/generales/ginecologia/index.htm. PROGRAMA NACIONAL DE ACTUALIZACION Y DESARROLLO ACADEMICO PARA EL MEDICO GENERAL. México D.F. actualizado noviembre del 2007.

37. **Wikipedia**, la enciclopedia libre. Leucorrea. Disponible en http://es.wikipedia.org/wiki/Leucorrea. Página modificada por última vez el 13 oct. 2010, a las 20:10.

ANEXOS

ANEXO № 1

Loja, 5 Abril del 2010

Dra.
Janeth Remache
DIRECTORA DEL CENTRO DE SALUD № 1
Ciudad.-

De mi consideración:

Ada Elizabeth Ordoñez Hoyos de nacionalidad ecuatoriana portadora de la cédula de identidad N. 1103578553 egresada de la carrera de Laboratorio Clínico solicito a usted de la manera más comedida se digne autorizar a quien corresponda se me permita tomar muestras de Secreción Vaginal en niñas que acuden a este centro de salud, muestras que serán analizadas para la realización de mi tesis denominada ***"IDENTIFICACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE LEUCORREA EN NIÑAS DE 5-10 AÑOS QUE ACUDEN A LOS CENTROS DE SALUD № 1, 2 Y3 DE LA CIUDAD DE LOJA".***

Por la atención que se digne dar a la presente le antelo mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente.

ADA ORDOÑEZ HOYOS
1103578553

ANEXO № 2

Loja, 5 Abril del 2010

Sr. Dr.
Ernesto Ortiz
DIRECTOR DEL CENTRO DE SALUD № 2
"HUGO GUILLERMO GONZÁLEZ"

Ciudad.-

De mi consideración:

Ada Elizabeth Ordoñez Hoyos de nacionalidad ecuatoriana portadora de la cédula de identidad N. 1103578553 egresada de la carrera de Laboratorio Clínico solicito a usted de la manera más comedida se digne autorizar a quien corresponda se me permita tomar muestras de Secreción Vaginal en niñas que acuden a este centro de salud, muestras que serán analizadas para la realización de mi tesis denominada ***"IDENTIFICACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE LEUCORREA EN NIÑAS DE 5 - 10 AÑOS QUE ACUDEN A LOS CENTROS DE SALUD № 1,2 Y 3 DE LA CIUDAD DE LOJA".***

Por la atención que se digne dar a la presente le antelo mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente.

Laboratorio
Facilidades

ADA ORDOÑEZ HOYOS
1103578553

ANEXO №3

Loja, 5 Abril del 2010

Dra.
Noemí Armijos
DIRECTORA DEL CENTRO DE SALUD №2
"JEFATURA DE SALUD DE LOJA"

Ciudad.-

De mi consideración:

Ada Elizabeth Ordoñez Hoyos de nacionalidad ecuatoriana portadora de la cédula de identidad N. 1103578553 egresada de la carrera de Laboratorio Clínico solicito a usted de la manera más comedida se digne autorizar a quien corresponda se me permita tomar muestras de Secreción Vaginal en niñas que acuden a este centro de salud, muestras que serán analizadas para la realización de mi tesis denominada ***"IDENTIFICACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE LEUCORREA EN NIÑAS DE 5-10 AÑOS QUE ACUDEN A LOS CENTROS DE SALUD № 1,2Y3DE LA CIUDAD DE LOJA".***

Por la atención que se digne dar a la presente le antelo mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente.

ADA ORDOÑEZ HOYOS
1103578553

Lcdo Angel Pacheco
Por favor apoyar a la Srta. Ada Ordóñez a fin de que realice su trabajo de investigación con muestras de secreción vaginal
Mil gracias.

ANEXOS № 4

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
CENTRO DE DIAGNÓSTICO MÉDICO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Sra. Representante.-

De miconsideración

Por medio de la presente, me dirijo a Ud. para solicitarle de la forma más comedida me conceda la autorización para poder realizarle a su representada, la toma de muestra de secreción vaginal para la realización de análisis de laboratorio de dicha muestra, con la finalidad de realizar un estudio investigativo para el trabajo de tesis titulada ***"IDENTIFICACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE LEUCORREA EN NIÑAS DE 5 – 10 AÑOS QUE ACUDEN A LOS CENTROS DE SALUD N. 1, 2 Y 3 DE LA CIUDAD DE LOJA".*** Dicha investigación apoyará alconocimiento de cuáles son los agentes causales que provocan este síntoma (secreción vaginal), y también beneficiará de buena manera al médico, y al desarrollo de la niña.

Por la atención favorable que preste a la presente le anticipo mi más sinceros agradecimiento.

Firma

ANEXO№ 5

ENCUESTA

REGISTRO INICIAL DE DATOS DEL PACIENTE

Nombres y Apellidos completos:……..…….

Edad:…….. Sexo: Femenino.

Lugar de Residencia:

- Barrio:…….
- Tiempo en el cual reside:……

Tipo de vivienda

- Propia ( )
- Arrendada ( )

Grupo familiar

- № de integrantes……

Tipo de agua que consume

- Potable ( )
- Entubada ( )
- Otras……

Tipo de aseo personal

- Diario ( )
- Una vez por semana ( )
- De vez en cuando ( )

Información de su estado de salud:

- **Agentes Infecciosos.** SI ( ) NO ( )

  Cuales:……..

  Duración de Infección:……..

- **Desparasitación:** SI ( ) NO ( )

  Tiempo en el que se desparasitó…….

Gracias por su colaboración

ANEXO № 6

TRÍPTICO INFORMATIVO

ANEXO № 7

TRABAJO DE CAMPO

FASE PREANALÍTICA

Centro de Salud № 1 Directora Dra. Janeth Remache

Jefe del laboratorio Entrevista con las madres
Dra. Glenda Rodríguez

Área de toma de muestras de Secreción vaginal

Centro de salud № 2 ″Hugo Guillermo González"

Director Dr. Ernesto Ortiz

Jefe del Laboratorio Dra. Betty Barriga

Sala de recepción de muestras

Área de procesamiento de muestras

CENTRO DE SALUD № 3 ″JEFATURA DE SALUD DE LOJA"

Centro de Salud № 3

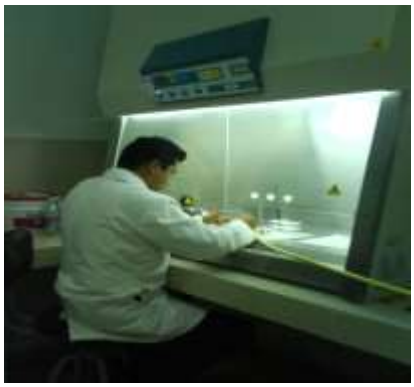
Directora Dra. Noemí Armijos.

Jefe del Laboratorio
Lcdo. Ángel Pacheco

Entrevista con la madre

FASE ANALÍTICA

Centro de Diagnostico ASH Área de microbiología



Siembra de las muestrasProcesamiento de las muestras

Incubación de las muestras Reconocimiento de colonias

Análisis Microscópico

Tinción de placas

Lecturas de las muestras

Desinfección del material utilizado y eliminación de desechos

FASE POSTANALÍTICA

DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN LAS TRES ÁREAS DE SALUD

Centro de salud № 1

Área de Salud №2 ″Hugo Guillermo González"

Jefatura de Salud

¿QUE ES LA LEUCORREA?

Es una "secreción blanca" de la vagina, su color puede variar dependiendo de la causa, más que un síntoma es un síndrome, la infección vaginal, puede variar desde una secreción lechosa normal en la niña, hasta una sanguinolenta causada por un cáncer de vagina o de cérvix. Antes de la primera menstruación puede existir una secreción vaginal escasa que no causa irritación y no se considera anormal y en la adolescente se presenta una pequeña cantidad de material mucoide blanco en la vagina que es el resultado de la y acumulación de células epiteliales.

LEUCORREA EN LA INFANCIA

En la niñez y en la adolescencia, son las madres las más preocupadas y son las que necesitan que se les brinde explicación y tranquilidad. Muchas niñas no reciben tratamiento porque hay resistencia por parte de la madre al examen de los genitales de su hija, e incluso mayor resistencia a que la examine un médico.

¿COMO SE CLASIFICAN LAS LEUCORREAS?

- Leucorrea infecciosa (gérmenes)
- Leucorrea discrásica (aumento de estrógenos de origen vaginal)
- Leucorrea irritativa (infecciosas y parasitarias)

¿QUE FACTORES PREDISPONE A LA APARICIÓN DE LEUCORREAS EN LAS NIÑAS?

- El cambio de clima de fresco cálido
- Los antibióticos de amplio espectro, corticoides, el metronidazol, etc
- Falta de higiene personal e inadecuado higiene de los genitales
- Ropa interior sintética o compartir ropa con otros niños o de personas adultas.
- Baja de defensas.
- Introducción de cuerpos extraños.
- Parásitos
- Traumatismos genitales (incluso abuso sexual).

¿QUE SINTOMAS SE OBSERVA EN LAS NIÑAS?

La mayor parte de los problemas que se presentan en el aparato reproductor de las niñas se localizan en la vulva o en la vagina Los principales síntomas que la madre puede observar son:

- Secreción vaginal maloliente
- Secreción de color amarilla, verde, etc.
- Irritación genital,
- Prurito o picazón de la vulva.
- Manchado de la ropa interior.

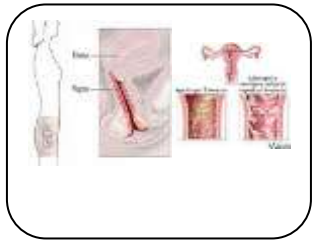
}

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

LEUCORREA EN NIÑAS

2010

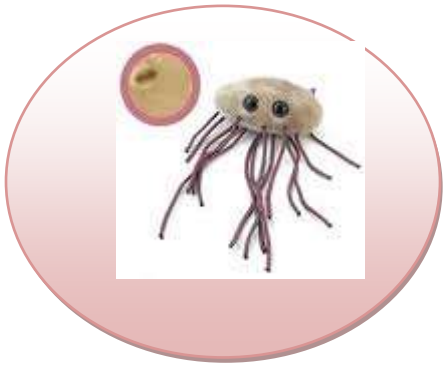
Las vaginitis, como procesos esencialmente inflamatorios de la mucosa, tienen tal número de agentes etiológicos que, aunque todas caen dentro de dos grupos: infecciosas y no infecciosas, merecen siempre estudio cuidadoso y orientado clínicamente



El escurrimiento vaginal por sí solo ofrece características determinables clínicamente y es un medio de estudio físico, microscópico y bacteriológico.

AGENTES CAUSALES DE LAS LEUCORREAS EN NIÑAS

MICROORGANISMO	*PORCENTAJE*
ESCHERICHIA COLI	*32%*
ESTAFILOCOCO SAPROFITICUS	*28%*
ESTAFILOCOCO EPIDERMIDIS	*9%*
ENTEROBACTER AGGLOMERANS	*4%*
PROTEUS VULGARIS	*4%*
ESTREPTOCOCO VIRIDANS	*4%*
CANDIDA ALBICANS	*3%*



ECHERICHIA COLI

PREVENCIÓN DE LAS LEUCORREAS INFANTILES

- ***Adecuado higiene corporal y de los genitales.***

- ***No utilizar ropa sintética de otros niños o adultos***

- ***Información y educación de las madres y niñas.***