

Evaluación del diagnóstico de laboratorio manual y automatizado de infecciones vaginales

Alba Angélica Flores Juárez^{1,2}, Alma Rosa Ramírez Cruz¹,
Ana María Salazar Villalobos¹, Rosa Salgado Brito²

¹Unidad de Medicina Familiar No. 15 IMSS

²Universidad Simón Bolívar

Resumen

Las metodologías utilizadas en la identificación de microorganismos patógenos causantes de infecciones han mejorado notablemente, al mismo tiempo que la demanda de atención médica ha aumentado y algunas características de la población se han modificado. De ahí la necesidad de relacionar la prevalencia de microorganismos dentro de la población y reconocer que la diversidad de géneros y especies microbianas causantes de enfermedades o infecciones ha ido en aumento. El objetivo de este trabajo es evaluar el uso del método de identificación automatizada del equipo VITEK 2.0 en exudados vaginales para identificar agentes causales de infecciones del aparato reproductor femenino, en comparación con los métodos manuales utilizados años atrás y actualizar la microbiota y de los agentes causales de infecciones más comunes en el aparato reproductor femenino.

Se recopiló la información de pacientes atendidas en un lapso de dos años, las muestras se procesaron con el método automatizado y los resultados se compararon con un estudio anterior realizado en la misma clínica donde las muestras fueron procesadas por métodos manuales. Los resultados obtenidos mostraron que el número de géneros microbianos reportados utilizando el Vitek 2 aumentó de siete géneros obtenidos manualmente a 23, utilizando el equipo. Se logró la identificación hasta especie en el mayor número de casos. Los microorganismos que se presentaron con mayor frecuencia fueron Enterobacterias y Candida sp. y por primera vez se reporta al género Kocuria como causante de infecciones vaginales por lo que la prevalencia de la microbiota y la identificación de bacterias que causan infecciones vaginales cambia considerablemente a la reportada por la literatura gracias a la utilización del sistema de identificación bacteriana Vitek 2.

Palabras clave: Géneros microbianos, infecciones vaginales, microbiota.

Abstract

The methodologies used in the identification of pathogens causing infections have improved significantly, while demand for medical care has increased and some population characteristics have changed. Hence the need to relate the prevalence of microorganisms within the population and recognize that the diversity of microbial genera and species that cause disease or infection has been increasing. The aim of this study was to evaluate the use of automated identification method of equipment VITEK 2.0 in Pap smears to identify causal agents of the female reproductive tract infections, compared with manual methods used years ago to update the microbiota and the causative agents most common infections in the female reproductive tract.

We collected information from patients who attended a two-year period, samples were processed by the automated method and the results compared with a previous study conducted in the same clinic where the samples were processed by manual methods. The results showed that the number of microbial genera reported using the Vitek 2 increased from seven to 23 genera obtained manually, using the computer. Species had been identified in the greatest number of cases. Microorganisms were the most frequently submitted Enterobacteria and Candida sp. and first report of the genus Kocuria to cause vaginal infections so the prevalence of microorganisms and identification of bacteria that cause vaginal infections varies considerably to that reported in the literature through the use of bacterial identification system Vitek 2.

Keywords: Microbial sorts, vaginal infections, microbiota.

Introducción

La identificación de los géneros y las especies bacterianas a partir de muestras biológicas en los laboratorios clínicos de rutina se realiza gracias a pruebas bioquímicas, fisiológicas y de susceptibilidad a sales o antibióticos. Dentro de las pruebas bioquímicas se incluyen pruebas de utilización de fuentes de carbono, principalmente de carbohidratos, para determinar si éstos son fermentados u oxidados, si hay utilización de proteínas y/o aminoácidos y ácidos orgánicos incluidos los grasos, así como la producción de enzimas. Las pruebas fisiológicas pueden determinar si las bacterias crecen a diferentes temperaturas, pH y diferentes concentraciones de NaCl y en cuanto a las pruebas de susceptibilidad, éstas incluyen susceptibilidad a diferentes sales y diferentes concentraciones de las mismas y antibióticos (Bailey y Scott, 2004).

En la actualidad es posible para algunos casos realizar pruebas de identificación bacteriana mediante estudios moleculares, sin embargo en la mayoría de los laboratorios clínicos de rutina no se cuenta con la infraestructura y la tecnología para realizar este tipo de pruebas; sin embargo existen sistemas de identificación semiautomatizada en donde se pueden realizar entre 8 y 12 pruebas como BBL Enterotube II o sistema API por mencionar algunas, y hace algunos años se introdujo el uso de sistemas de microidentificación automatizados como el Vitek system 2 que ha identificado, por ejemplo, *Staphylococcus* y *Micrococcus* en un tiempo mínimo de 4 h gracias a la tecnología del equipo basada en la fluorimetría (Appelbaum *et al.*, 1995; Rhoden y Miller, 1995; García, 2002, Spanu y cols., 2003).

La identificación por medio del sistema VITEK 2.0, se realiza a través de tarjetas de un solo uso, en estas tarjetas están las pruebas bioquímicas más significativas para el tipo de microorganismo a identificar, la tarjeta usa métodos bioquímicos establecidos, desarrollados recientemente para medir la utilización de ciertas fuentes de carbono, actividad enzimática y resistencia antimicrobiana del microorganismo (bioMérieux, 2004; Pincus, 2006).

Las infecciones más frecuentes en el aparato reproductor femenino incluyen, vulvovaginitis, bartolinitis y vaginitis o vaginosis (Spiegel, 1991; YAN Dong-hui *et al.*, 2009). La vulvovaginitis es la inflamación de la vulva y la vagina, causada por varios géneros bacterianos y otros microorganismos como *Trichomonas vaginalis* y *Candida albicans* (Berkow *et al.*, 1994). La vaginosis bacteriana, antes denominada vaginitis inespecífica, se asocia principalmente a *Gardnerella vaginalis* (Salmon *et al.*, 1991; González *et al.*, 1999; YAN Dong-hui *et al.*, 2009), otros agentes causales también son *T. vaginalis* y la levadura *C. albicans* (Bailey y Scott, 2004; Berkow *et al.*, 1994). La vaginosis puede también tener una etiología polimicrobiana, que incluye, además de *G. vaginalis*, otros microorganismos anaerobios facultativos dentro de los que destacan especies de los géneros de *Staphylococcus* y *Streptococcus* (Rabe *et al.*, 1988; Spiegel, 1991; Domann *et al.*, 2003; Bailey y Scott, 2004; Pretorius *et al.*, 2007; YAN Dong-hui *et al.*, 2009).

El cultivo del exudado vaginal es una prueba de rutina para apoyar el diagnóstico de infecciones vaginales en las clínicas del Instituto Mexicano

del Seguro social (IMSS), donde desde hace algún tiempo se han encontrado variaciones en la prevalencia de microorganismos encontrados como resultado del cultivo de exudado vaginal, posterior a la introducción del sistema VITEK 2.0. Este nuevo sistema amplía la variedad de microorganismos que es posible identificar, por lo tanto es importante realizar una evaluación de la microbiota y de los agentes causales de infección vaginal dado el cambio en la metodología utilizada.

Por lo tanto comparar resultados obtenidos con sistemas de identificación automatizada contra los sistemas manuales antes realizados permitirán conocer mejor la microbiota en el aparato reproductor femenino o proponer algunos géneros que antes no se consideraban como agentes de infección; o bien, determinar si las infecciones vaginales son mixtas y sobre todo identificar exacta y precisamente, los agentes asociados a estas infecciones; al comparar los resultados obtenidos en este trabajo con los resultados obtenidos en el año 2001 realizado por Arenas y colaboradores obtenidos por identificación manual. Esta comparación además permitirá realizar cambios o mejoras, en el diagnóstico clínico médico y la disminución de errores en el procedimiento de laboratorio.

Objetivo

Evaluar el uso del método de identificación automatizada mediante el equipo VITEK 2.0 en exudados vaginales para identificar agentes causales de infecciones del aparato reproductor femenino, en comparación con los métodos manuales realizados anteriormente y actualizar la prevalencia de la microbiota y de los agentes causales de infecciones más comunes en el aparato reproductor femenino.

Método

A partir de la muestra del exudado vaginal se hizo la preparación en fresco con solución salina, para buscar *Trichomonas vaginalis*, levaduras, leucocitos, eritrocitos, células clave y células epiteliales. Se agregó a la muestra una gota de KOH al 10% y se determinó si desprendían aminas para así identificar la presencia de *Gardnerella vaginalis*. Se realizó un frotis y se tiñó por tinción de Gram, se

observó al microscopio. La muestra se sembró por la técnica de estría cruzada en agar sangre (COS), chocolate (PVX), MacConkey (MCK) o agar eosina azul de metileno (EMB), CPS ID3 (CPS3), candida (CAN) de la marca bioMerieux, o medio Biggy. Las placas sembradas de agar sangre, MCK/EMB, CPS3 y CAN/Biggy se incubaron a una temperatura de 37° C por 24-48 hrs. Las placas de agar Chocolate, se incubaron a 37°C en atmósfera de CO₂ (Damián, 2008). De las colonias aisladas se realizó un frotis y se hizo tinción de Gram, prueba de oxidasa y catalasa, con los resultados de estas pruebas se escogió la tarjeta de identificación.

Para bacterias Gram positiva se utilizó la Tarjeta GP, para bacterias Gram negativas la Tarjeta GN y para levadura Tarjeta YST, todas de la marca bioMerieux. Se hizo una suspensión bacteriana en tubos de plástico de poliestireno de 12 x 75 mm con 3.0 mL de solución salina estéril cada uno. Con el asa bacteriológica se transfirieron colonias aisladas y de cultivo puro al tubo, se agitaron repitiendo la operación hasta conseguir una suspensión homogénea de microorganismos con densidad correspondiente al microorganismo a identificar: si es una bacteria Gram positiva 0.5-0.63 McFarland, para el caso de una Gram negativa 0.5-0.63 y para el caso de Levaduras 1.80 – 2.20 McFarland, conforme a las indicaciones del fabricante.

Una vez llenas las tarjetas de identificación se cambiaron al compartimiento 2 del equipo, la tarjeta se selló y se ingresó para su análisis. Las tarjetas se incubaron a 37° dentro del equipo por espacio de 6-12 hrs, que es la duración del análisis, dependiendo del microorganismo a identificar; terminado el tiempo de incubación y el análisis de la tarjeta se expulsó por el compartimiento 3, se verificaron los resultados y se realizó el informe de los mismos, anotándolos también en la bitácora de resultados (bioMérieux, 2004).

Para la realización del estudio, se recuperó la información de 4833 pacientes que fueron atendidas entre el 3 de julio del año 2006 y el 3 de julio del año 2008, estos resultados son comparados con los resultados obtenidos de identificación de las bacterias que se realizó en forma manual en el 2001 por Arenas y colaboradores, (trabajadores del IMSS); considerando la identificación de los microorganismos encontrados, se determinó el porcentaje de aislamiento de cada uno con respecto al total de muestras procesadas y la información

obtenida de cada paciente y se hizo un análisis de correlación entre la sintomatología y el cultivo en ambos estudios.

Resultados

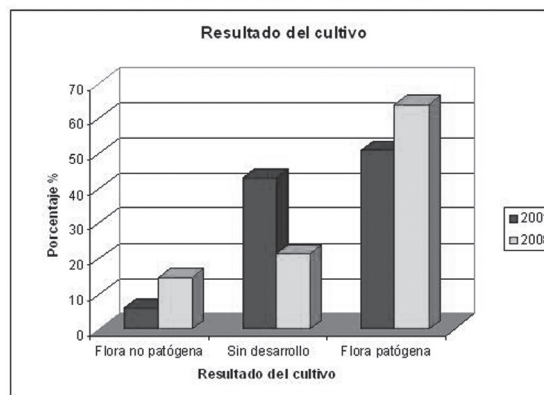
En la figura 1 se muestra la comparación con los resultados obtenidos de exudados vaginales realizados manualmente. Mediante la identificación automatizada, podemos ver la relación de cultivos negativos o sin desarrollo en los medios, y los cultivos positivos divididos en los que se aisló e identificó flora normal y en donde se encontró microbiota patógena.

Los cultivos negativos son aquellos que no tuvieron desarrollo; los cultivos de microbiota normal son aquéllos en los que se encontraron bacterias pertenecientes a la microbiota vaginal, en tanto que los cultivos de microbiota patógena son los que presentaron bacterias que normalmente no se encuentran en la vagina.

En el estudio del 2001 se observa un mayor porcentaje de muestras sin desarrollo, en comparación con el estudio del 2008, donde se obtuvieron porcentajes mayores de cultivos con microbiota normal y patógena; para el caso de microbiota no patógena, el porcentaje obtenido en el 2008 es el doble en comparación con el del 2001, no así para el caso de microbiota patógena donde aunque hay un aumento para el 2008 y sólo representa una quinta parte del correspondiente al 2001.

El aumento en los porcentajes de los cultivos con desarrollo microbiano puede deberse a que los medios de cultivo en el caso del 2001 se preparaban en el laboratorio y aunque se utilizaba agua destilada, no se ajustaba el pH, por lo que estos medios no proporcionaban las condiciones óptimas para que los microorganismos se desarrollen, mientras que a partir del 2008 se adquirieron medios de cultivo ya preparados y de mejor calidad. Como fue de esperarse, no se obtuvieron cultivos puros en ambos estudios, por lo que se estableció como criterio para seleccionar cuál microorganismos se identificaría y se reportaría al microorganismo predominante en el cultivo como el agente causal de la infección.

Figura 1. Comparación entre los porcentajes de los resultados de los cultivos obtenidos en el estudio del año 2001 y el estudio del año 2008.



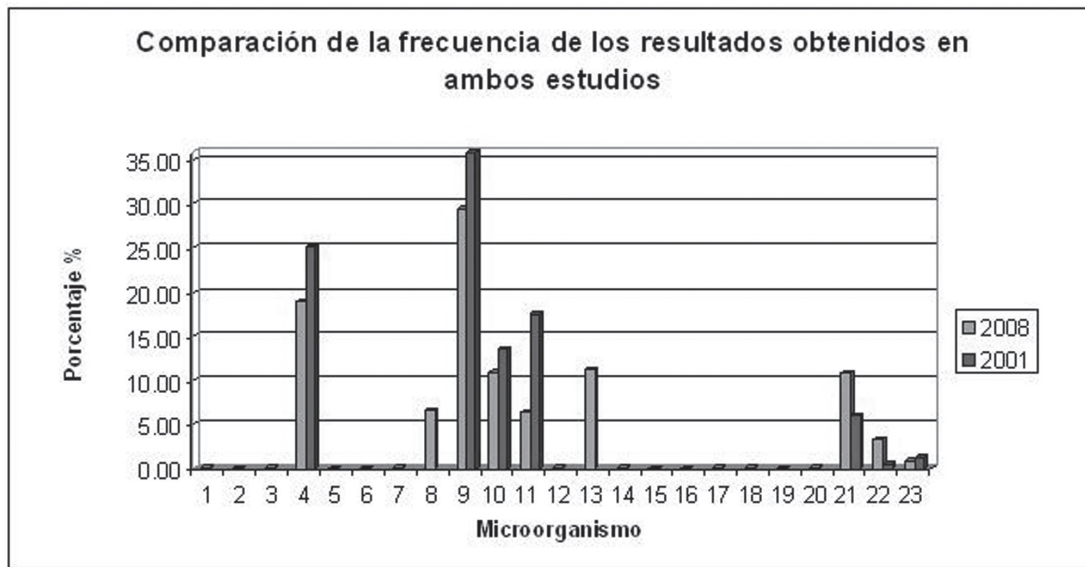
La figura 2 muestra la comparación de los resultados de los porcentajes de los géneros microbianos aislados en cultivo o encontrados en preparaciones en fresco (*Trichomonas*), del estudio realizado por Arenas, tanto en el 2001 y en el 2008. Se observa que los microorganismos más encontrados en el 2008 fueron las *Enterobacterias* en un 29.49%, entrando dentro de este grupo *E. Coli*, *Klebsiella* y *Proteus*, seguidos de *Candida* con un 19.0%, observándose también una buena proporción de pacientes con cultivo mixto con un 11.0% (número 10 en la gráfica de la figura 2, donde se encontraron dos o más microorganismos que pueden identificarse con los patógenos nombrados individualmente en el reporte), *Kocuria* con 11.25% y *Staphylococcus* con 10.9%.

En cuanto a los microorganismos encontrados en el estudio del año 2008 en comparación con los reportados en el estudio del año 2001, la más evidente diferencia radica en el número de géneros de microorganismos aislados e identificados: mientras que en el año 2001 se reportaron 7 géneros diferentes, en el año 2008 fue posible identificar 23 géneros diferentes de microorganismos (figura 2), es decir, 16 géneros más, dentro de los cuales destacan *Enterococcus* y *Kocuria* que no habían sido reportados anteriormente; por otro lado, observamos una disminución en el porcentaje de algunos géneros como *Gardnerella*, ya que disminuye dos veces menos que el porcentaje obtenido en el 2001. Otros géneros que también presentan porcentajes de aislamiento e identificación mucho menor al encontrado en 2001 son *Candida* y el grupo de las *Enterobacterias*.

En cuanto a aumentos en el porcentaje de reportes de los géneros bacterianos en el 2008, se encontró que los únicos géneros que aumentaron el porcentaje de aislamientos e identificaciones fueron *Streptococcus* y *Staphylococcus*, aumentado dos veces más el porcentaje para el primero y un poco más de la mitad para el segundo género.

En el caso de los cultivos mixtos, se obtuvo una disminución en el porcentaje de aproximadamente un 2% de este tipo de reportes en los exudados vaginales en el estudio del 2008. Por otro lado se pueden observar también algunos aislamientos e identificaciones de *Corynebacterium* que en el 2001 no fueron aislados.

Figura 2. Comparación entre los resultados de los cultivos obtenidos en el estudio del año 2001 y el año 2008.

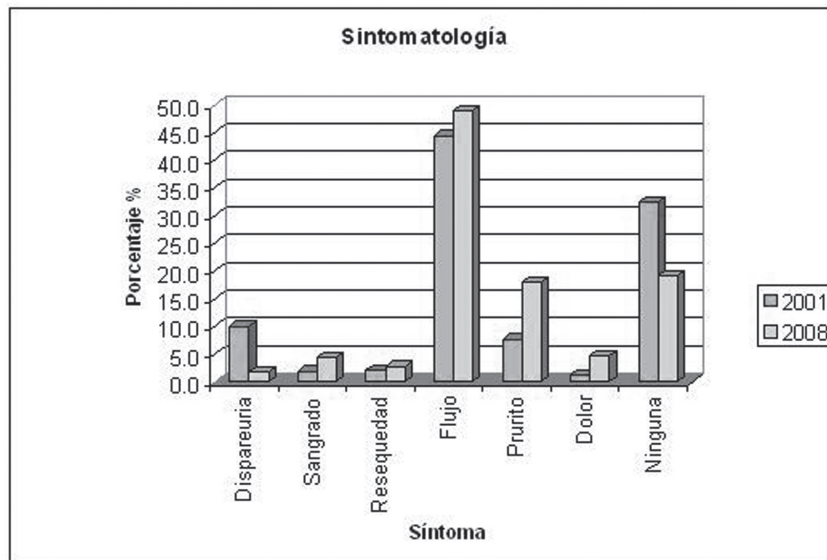


Siendo (1) *Acinetobacter sp.* (2) *Actinobacillus sp.* (3) *Aeromonas sp.* (4) *Candida sp.* (5) *Corynebacterium sp.* (6) *Cryptococcus sp.* (7) *Micrococcus sp.* (8) *Enterococcus sp.* (9) *Enterobacterias* (10) Mixto (11) *Gardnerella vaginalis* (12) *Gemella sp.* (13) *Kocuria sp.* (14) *Leuconostoc sp.* (15) *Moraxella sp.* (16) *Pasteurela sp.* (17) *Pediococcus sp.* (18) *Pseudomonas sp.* (19) *Raoutella sp.* (20) *Sphingomonas sp.* (21) *Staphylococcus sp.* (22) *Streptococcus sp.* (23) *Trichomonas vaginalis*. Siendo todos aislados en cultivo a excepción de *Trichomonas* las cuales son encontradas en la evaluación del fresco

La sintomatología que la paciente refiere al médico, es de gran importancia, ya que éste es lo que el médico considera para la remisión de la paciente al servicio de laboratorio para que se le realice el cultivo de la secreción. En la figura 3 observamos los porcentajes obtenidos para cada sintomatología que refieren las pacientes; en ambos estudios, dichos síntomas fueron: dispareuria, sangrado, resequeidad, flujo, prurito, dolor o ninguna molestia.

El síntoma predominante es el flujo con el 49.0% aumentando un 5% en comparación con los resultados obtenidos en el estudio anterior, siendo el menor la dispareuria con el 1.18%, en el 2008, mientras en el año 2001, representaba el 10.0% de los síntomas. Se observa también un leve aumento en el sangrado de 1.9% a 4.5%, en 2001 y 2008 respectivamente, en tanto que la resequeidad no cambió de manera notoria. El prurito aumentó de 7.8% al 18.1%, el dolor también aumentó aproximadamente 3 veces, del 1.3% al 4.6% mientras las pacientes que no refieren ninguna molestia disminuyeron del 32.3% al 19.2%, estos últimos resultados indican que la población hoy es más consciente y sensible al detectar los síntomas de infección, probablemente por la información que dan los medios de comunicación sobre enfermedades e infecciones del tracto genital o bien, a que el tipo de infección asintomática se ha hecho menos frecuente.

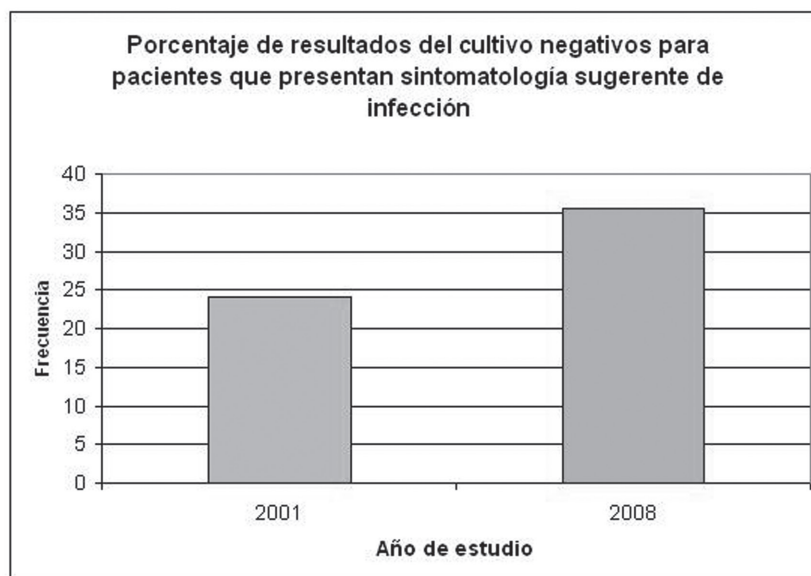
Figura 3. Comparación de gráficas de sintomatologías observadas en los pacientes incluidos en ambos estudios



La figura 4 muestra la frecuencia en que se encontraron cultivos negativos en pacientes que presentaban sintomatología sugerente de infección, siendo éstos el flujo, dispareuria, sangrado, prurito, resequedad y dolor, presentes en ambos estudios.

El porcentaje se calcula considerando a todas las pacientes como el 100%, definiéndose entonces como frecuencia al número de veces que se observa el evento. En el 2008 las pacientes con cultivo negativo y sintomatología se presentan con un porcentaje del 35.6%; este resultado es alto por lo que el resultado negativo no obedece a la ausencia de infección, sino a que el microorganismo que la está causando puede ser exigente en cuanto a sus necesidades de nutricionales o a las condiciones de incubación, por lo que no fue posible aislarlo en el laboratorio de primer nivel, tal como serían los casos de *Chlamydia tracomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Treponema pallidum*, *Neisseria gonorrhoeae* y algunos virus como herpes virus tipo II, virus de papiloma humano, etcétera. El aumento en este porcentaje en comparación con los resultados obtenidos en el estudio del año 2001, sugiere un aumento en las infecciones por organismos exigentes o no cultivables.

Figura 4. Comparación de resultados de cultivos negativos para pacientes que presentan sintomatología sugerente de infección en ambos estudios.



Discusión

Las infecciones son las enfermedades que más frecuentemente se asocian a altas tasas de mortalidad, como en el caso de las infecciones de vías respiratorias y gastrointestinales; sin embargo aunque las infecciones vaginales difícilmente ocasionan muertes, si representan un serio problema de salud y no sólo para las mujeres adultas, sino también para recién nacidos, además de que los síntomas son molestos y la infección es difícil de controlar por la necesidad de tratar a la pareja, ya que los hombres no se realizan estudios frecuentes a diferencia de la mujer que con frecuencia se practica al menos la prueba del Papanicolaou y de ahí algunas veces son enviadas a realizarse estudios microbiológicos, cultivo de exudado vaginal y observación en fresco (Bailey y Scott, 2004; Youmans *et al.*, 1982; Murray *et al.*, 2002).

La seguridad y rapidez en la identificación bacteriana y estudios de sensibilidad antimicrobiana son esenciales en el manejo de los pacientes con enfermedades infecciosas. Por ello numerosos investigadores y casas comerciales dedicadas a la elaboración de materiales y reactivos desde hace más de dos o tres décadas han propuesto métodos de identificación, sobre todo bacteriana, para asegurar la efectividad de estas acciones. Dichos sistemas han evolucionado, de ser medios de cultivo en tubos de ensayo donde se demuestra el metabolismo microbiano, producción de enzimas y resistencia a compuestos químicos -incluidos algunos antimicrobianos-, hasta derivar en sistemas más complejos basados en tarjetas de identificación donde se pueden realizar al menos unas 30 pruebas diferentes como las antes mencionadas en un periodo de tiempo muy corto.

Acoplados éstos, además, a un programa que proporciona la identificación de más de 100 géneros y/o especies diferentes de un grupo de microorganismos, mediante equipos automatizados como el Vitek u otros; pasando por métodos semiautomatizados donde se utilizan paneles de pruebas a pequeña escala como las del sistema API, donde la inoculación se realiza manualmente así como la adición de reactivos a las pruebas, una vez inoculadas e incubadas durante el tiempo correspondiente, que no podrá ser menor a 24h. (Bailey y Scott, 2004; bioMérieux, 2004; Pincus, 2006).

Por lo anterior, es indudable la importancia de contar con sistemas de identificación que permitan considerar un mayor intervalo de microorganismos para dar el mejor tratamiento a las pacientes, ya que en algunos casos puede ser difícil dado su estado fisiológico, como lo es el embarazo, la diabetes o incluso después de recientes intervenciones quirúrgicas. Así mismo es importante dar los resultados de estos cultivos lo más rápidamente posible para evitar malos tratamientos, que en lugar de remediar, afectan y alteran la flora normal que protege de infecciones en este sitio.

La ventaja más notable del sistema *VITEK* es la rapidez con que se obtienen los resultados, este sistema es óptimo cuando se utiliza para microorganismos gram-negativos, gram-positivos y levaduras, aislados con mayor frecuencia en el laboratorio de microbiología clínica aunque no reemplaza por completo al método convencional manual. La adecuada combinación de ambos aumenta considerablemente la eficacia de los diagnósticos microbiológicos (Shetty y cols., 1998; Jorda y cols., 2005).

Distintos estudios han evaluado el rendimiento del sistema *VITEK* en la identificación bacteriana y sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos clínicos. Robinson y colaboradores en el año 1995 obtuvieron una concordancia del 95.5% en la identificación a nivel de especie bacteriana en bacilos gram-negativos. La utilización de las tarjetas GNI+ amplía el espectro de microorganismos a 18 especies con respecto a las tarjetas GNI (bioMérieux, 1996; Bourbeau y cols., 1998). Ling-Ling-Sung (2000) evaluó la tarjeta GNI+ en 216 aislamientos clínicos poco frecuentes de bacilos gram-negativos no fermentadores con una correlación final a nivel de género y especie de 92.3%. En contraste, O'Hara y cols. (1997) obtuvieron una concordancia de 87.6% en la identificación de 619 bacilos gram-negativos.

El Sistema Vitek fue rediseñado con la tecnología de fluorometría avanzada y una base de datos con más de 330 especies de microorganismos que pueden ser identificados con el uso de tarjetas dependiendo del grupo de microorganismos que se aislen en las pruebas de rutina del laboratorio clínico; esta base de datos cubre más del 95% de pruebas de rutina, y ha dado el 93% de precisión para la tarjeta GP, el 94% para la GN, 87% para BCL y 84% para la tarjeta YST; las tarjetas se leen cada 15 minutos, siendo el tiempo promedio de

resultado de 4-6 h para las tarjetas GP y GN y de 6-8 h para BLC y YST respectivamente (bioMérieux, 2009).

En este trabajo se utilizó este sistema de identificación para identificar a las bacterias y levaduras aisladas en cultivos a partir de muestras de exudados vaginales; se compararon los resultados de identificación con los resultados de un estudio realizado previamente e identificando de forma manual (Arenas *et al.*, 2001). Cambiar de una metodología microbiológica tradicional a una automatizada ha tenido como efecto la obtención de resultados más exactos y confiables, puesto que para identificar un microorganismo presente en exudados vaginales por medio de un primer estudio microbiológico de identificación manual de un, se podrían realizar hasta 10 pruebas bioquímicas y/o morfológicas y fisiológicas; pero en caso de utilizar un sistema automatizado como el Vitek Sistem 2, la cantidad de pruebas que se realizan es dos veces mayor en comparación con el sistema manual, además de que todas ellas se pueden realizar en un intervalo de tiempo mucho menor.

Para este caso la identificación requiere solamente de 4h mientras que para el caso de la identificación manual de 24 a 48 h, siempre y cuando ya se tengan las bacterias perfectamente aisladas y los resultados de las pruebas de tinción de Gram catalasa y oxidasa (Shetty y cols., 1998; Jorda y cols., 2005)

El cambio en los resultados de los cultivos procesados, además de lo ya comentado, puede atribuirse a que la recolección de la muestra ha podido darse de manera más eficiente; asimismo, la re-selección de medios de cultivos a emplearse y el uso de otros medios adicionales, ha dado lugar a la obtención de resultados más confiables y a que se haya logrado un desarrollo más satisfactorio de microorganismos exigentes, lo que a aumentado la sensibilidad del método.

Sin embargo, en este punto es importante puntualizar que los microorganismos que es posible aislar en este nivel 1 de la atención médica no son los únicos agentes causales de infección, sencillamente son los más comunes, por lo que es importante que al recibir el tratamiento, también se le lleve a cabo un correcto seguimiento a la paciente, para descartar el que la infección esté siendo causada por microorganismos no aislables en las condiciones del laboratorio del primer nivel de atención médica,

como lo son *Chlamydia*, *Ureaplasma*, *Mycoplasma* y los virus como VIH, VPH y VHS (Bailey y Scott, 2004; Murray *et al.*, 2002).

De ahí que es posible encontrar cultivos de los exudados vaginales sin desarrollo aún cuando haya sintomatología (ver figuras 1 y 2) , por lo que se debe orientar y recomendar a la paciente a atenderse en un Hospital de nivel superior donde esto sea posible, para descartar los agentes causales, o bien, para identificar el segundo tipo de microorganismos si se trata de una infección mixta y así poder proporcionar la atención adecuada, considerando además que las infecciones causadas por los agentes no cultivables, en muchas ocasiones, son infecciones mixtas que es importante tratar en conjunto para asegurar la salud de la paciente (Bailey y Scott, 2004).

Aumentar el intervalo de identificación microbiana con un equipo automatizado, permite evaluar más eficientemente una muestra clínica, logrando identificar al verdadero agente causal. Esto último posibilita a que el médico proporcione un tratamiento más específico y por lo tanto más efectivo para combatir el problema de la paciente con la subsecuente disminución de la administración de tratamientos no efectivos, recaídas y por lo tanto, mejorando la salud de la misma.

En cuanto a las frecuencias observadas de los microorganismos, se observaron disminuciones en el reporte de *Candida sp.*, *Enterobacterias*, cultivos mixtos y *Gardnerella* siendo importante poner atención a las medidas de higiene que la población está teniendo, así como a las costumbres que se están tomando, en cuanto a los cuidados en su vida sexual, uso de productos de higiene personal que puedan afectar las condiciones propias de la vagina y el estado de salud general de la paciente.

Así mismo, se observa la presencia de nuevos géneros, en frecuencias que parece importante considerar, tal es el caso del género de *Kocuria sp.* Además del aumento en el número de microorganismos identificables hasta la especie, se aumenta la rapidez en el método, ya que en muchas ocasiones no es necesario resembrar, además de obtener el resultado en menos de 24 horas, ayudando así a que se dé el tratamiento más adecuado e impidiendo tratamientos innecesarios o ineficientes.

En este punto cabe mencionar, que a pesar que se resumieron los resultados con el fin de poder agruparlos y compararlos más fácilmente con los obtenidos en el año 2001, tras desglosarlo encontramos que al identificar el microorganismo hasta la especie, se reportaron a lo largo de los 2 años que abarcó este estudio, un total de 67 microorganismos diferentes. Se encontró diferencia en varios microorganismos, tales como los incluidos en los géneros *Candida*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y en las *Enterobacterias*. En cuanto a *Candida* se reportaba hasta la especie sólo en el caso de *Candida albicans*, sin embargo se puede encontrar también *C. glabrata* y *C. tropicalis*, por mencionar las más comunes, que en la actualidad se reportan como tales y no como *Candida sp.* En cuanto a los *Staphylococcus* se buscaba principalmente el *S. aureus* y en cuanto a los *Streptococcus*, se busca principalmente *S. agalactiae* y *Streptococcus* del grupo B, pudiendo reportarse ahora hasta 21 especies entre los dos géneros, como *Staphylococcus epidermidis*, *S. haemolyticus*, *Streptococcus mitis oralis*, *S. gallolyticus*, por mencionar algunos.

Por otro lado y gracias a este sistema es posible identificar también al género *Corynebacteria* que antes no se identificaba y que ya se ha reportado como agente causal de infecciones vaginales (Shukala, 2003).


En cuanto a las *Enterobacterias*, se reportaba muy frecuentemente a *E. coli*, lo que ha disminuido y para el casos de *Klebsiella sp* ahora se diferencia en *K. pneumoniae* o *K. oxytoca*; *Proteus* se diferencia de *P. vulgaris* ó *P. mirabilis* (ver figura 2). En este aspecto, la importancia no radica tanto en que el tratamiento sea diferente entre las especies, sino a nivel epidemiológico al reportarse hasta especie; no sólo se obedece a las recomendaciones de las nuevas normas, sino que se puede apreciar si algún microorganismo en especial comienza a prevalecer en la población volviéndose aún más importante el ponerle atención. (Chen *et al.*, 2009)

El aumento en la información de sintomatologías de infecciones vaginales y sus efectos, como cáncer cérvico-uterino en el caso del VPH, ha puesto en alerta a médicos y pacientes en las clínicas familiares de instituciones públicas, de ahí que para la paciente la identificación de los síntomas como indicación de una posible patología en su organismo sea más sencilla y por consiguiente busque

orientación médica o tratamiento para su óptima atención, por lo que la población que ha buscado atención médica, ha aumentado de manera considerable, en el transcurso de los años (INEGI, 2009).

Como se puede ver en las figuras 3 y 4 aunque haya sintomatología no siempre se aíslan microorganismos y como ya se ha comentado esto no quiere decir que la paciente no tenga infección, por el contrario, hay que descartar que se trate de infecciones virales (VPH, VHS, VIH) y/o de bacterias no fácilmente cultivables (*Chlamydia*, *Ureaplasma*, *Mycoplasma*) así mismo será importante realizarle estudios complementarios para descartar causas de la sintomatología como VDRL, pruebas inmunoenzimáticas, etcétera. (Bailey y Scott, 2004).

Conclusión

Gracias a las nuevas metodologías de identificación microbiana es posible identificar otras especies microbianas como agentes causales de infecciones vaginales, tales como especies del género *Kocuria* que no se habían reportado y que deben ser consideradas en los reportes de resultados de los exudados vaginales, para estar en condiciones de realizar estudios epidemiológicos de este tipo de infección y de sus agentes causales. 

Referencias

- Appelbaum, P., Jacobs, M., Buick, M., Flanagan, M. y Gymer, G. (1985). "Evaluation of the Micro-ID, the API 20E and the Rapid 20E for Same-Day Identification of Enterobacteriaceae". En *Eur. J. Clin. Microbiol.* 498-501.
- Arenas, G. y Ramirez, C. (2001) "Diagnostico situacional de exudados vaginales en la Unidad de Medicina Familiar #15 del Instituto Mexicano del Seguro Social, Delegación 4 Sur". En *Reporte de Análisis Poblacional*. México: IMSS.
- Bailey y Scott. (2004). *Diagnóstico Microbiológico*. México: Editorial Médica Panamericana.
- Berkow, R. y Fletcher, A. (1994). *Manual Merck de Diagnóstico y Terapéutica*. México: Editorial Mosby/Doyma Libros.
- bioMérieux (2004) *VITEK 2 compact. Manual del usuario*. México: bioMérieux de México S. A. de C. V.
- bioMérieux (1996). *bioMérieux Inc. GNI+ technical bulletin*. Hazelwood: VITEK Inc.
- Bourbeau, P. y Heiter, B. (1998). "Comparison of Vitek GNI and GNI+ cards for identification of gram-negative bacteria". En *J. Clin. Microbiol.* 36. 2775-2777.

- Chen, J., Lee, S., Yang, B. y Lu, J. (2009). "Rapid identification and susceptibility testing using the VITEK 2 system culture fluids from positive BacT/ALERT blood cultures". En *J. of Microbial Immunol and Infection*. 41 (3). 259-264.
- Damian, M. (2008) *Método específico de trabajo del área de Bacteriología*. México: IMSS.
- Domann, E., Hong, G., Can, I., Simon, T., Johannes, K., Watzel, C., Torsten, H., Hamid, H. y Trinad, C. (2003). "Culture-Independent Identification of Pathogenic Bacteria and Polymicrobial Infections in the Genitourinary Tract of Renal Transplant Recipients". En *J. Clin. Microbiol.* 41. 5500 - 5510.
- García, C. (2002). "Ventajas y problemas de los métodos automatizados de estudio de susceptibilidad in vitro". En *Rev Chil Infect.* 19. 96-100.
- González, P., Avilés, A., Ortíz, Z. e Irigoyen, C. (1999). "Bacterial vaginosis, a broad overview". En *Rev Latinoam Microbiol.* 41(1). 25-34.
- Haggerty, C., Totten, P., Ferris, M., Martin, D., Hoferka, S., Astete, S., Ondondo, R., Norori, J. y Ness, R. (2009). "Clinical characteristics of bacterial vaginosis among women testing positive for fastidious bacteria". En *Sex Transm Infect.* 85(4). 242-248.
- Instituto Mexicano del Seguro Social (2006) *Guía para el Cuidado de la Salud. Mujeres de 20 a 59 años*. México: IMSS.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. (2009). *Censos y conteos*. México: INEGI. Recuperado el 20 de mayo de 2009 en <http://www.inegi.org.mx/inegi/default.aspx>.
- Jordá, V., Lanza, A., Bonvehí, P., Nazar, J., Mikietuk, A., Labat, R. y Smayevsky, J. (2005). "Utilidad del sistema VITEK en la identificación bacteriana y estudios de sensibilidad antimicrobiana". En *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 39(1). 19-25.
- Ling, L., Yang, D., Hung, C. y Ho, H. (2000). "Evaluation of auto-SCAN-W/A and the Vitek GNI+ AutoMicrobic System for Identification of Non-Glucose-Fermenting Gram-Negative Bacilli". En *J. Clin. Microbiol.* 38. 1127-1130.
- Murray, P., Rosenthal, K., Kobayashi, G. y Pfaller, M. (2002). *Microbiología Médica*. Madrid, España: Mosby, Inc., and Elsevier Imprint.
- O'Hara, C., Westbrook, G. y Miller, M. (1997). "Evaluation of VITEK GNI+ and Becton Dickinson Microbiology Systems Crystal E/NF Identification Systems for Identification of members of the family Enterobacteriaceae and other gram-negative, glucose-fermenting and non-glucose-fermenting bacilli". *J. Clin. Microbiol.* 35. 3269-73.
- Pincus, D. (2006). "Microbial identification Using The Biomérieux VITEK ® 2 System". En Miller, M. (ed.). *Encyclopedia of Rapid Microbial Methods*.
- Pretorius, C., Jagatt, A. y Lamont, R. (2007). "The relationship between periodontal disease, bacterial vaginosis, and preterm birth". En *J Perinat Med.* 35(2). 93-9.
- Rabe, L., Winterscheid, K. y Hillier, S. (1988). "Association of viridans group streptococci from pregnant women with bacterial vaginosis and upper genital tract infection". En *J. Clin. Microbiol.* 26. 1156-1160.
- Rhoden, D. y Miller, J. (1995). "Four-year prospective study of STAPH-IDENT system and conventional method for reference identification of *Staphylococcus*, *Stomatococcus*, and *Micrococcus spp.*". En *J. Clin. Microbiol.* 33. 96-98.
- Rupp, M., Soper, D. y Archer, G. (1992). "Colonization of the female genital tract with *Staphylococcus saprophyticus*". En *J. Clin. Microbiol.* 30. 2975-2979.
- Salmon, S., Walker, R., Carleton, C., Shah, S. y Robinson, B. (1991). "Characterization of *Gardnerella vaginalis* and *G. vaginalis*-like organisms from the reproductive tract of the mare". En *J. Clin. Microbiol.* 29. 1157-1161.
- Shetty, N., Hill, G. y Ridgway. (1998). "The VITEK analyzer for routine bacterial identification and susceptibility testing: protocols, problems and pitfalls". En *J Clin. Pathol.* 51. 316-23.
- Shukla, S., Bernard, K., Harney, Mary, Frank, Daniel, N., Reed y Kurt, D. (2003). "Corynebacterium nigricans sp. nov.: Proposed Name for a Black-Pigmented Corynebacterium Species Recovered from the Human Female Urogenital Tract". En *J. Clin. Microbiol.* 41. 4353-4358.
- Spanu, T., Sanguinetti, M., Ciccaglione D., D'Inzeo T., Romano L., Leone F., Fadda G. (2003). Use of the VITEK 2 System for Rapid Identification of Clinical Isolates of Staphylococci from Bloodstream Infections. *J. Clin. Microbiol.* 41 4259-4263.
- Spiegel, C. (1991). "Bacterial vaginosis". En *Clin. Microbiol. Rev.* 4. 485 - 502.
- YAN, D., LÜ, Z. y SU, J. (2009). "Comparison of main lactobacillus species between healthy women and women with bacterial vaginosis". En *Chinese Medical Journal.* 122(22). 2748-2751.
- Youmans, G., Paterson, P., y Sommers, H. (1982). *Manual de Infectología*. México: Editorial McGraw Hill Interamericana.
- Zhou, X., Brotman, R., Gajer, P., Abdo, Z., Schüette, U., Ma, S., Ravel, J. y Forney, L. (2010). "Recent advances in understanding the microbiology of the female reproductive tract and the causes of premature birth". En *Infect Dis Obstet Gynecol.* 737425.